

Dipeptidil-peptidaza IV (DPP IV/CD26) i upalne bolesti crijeva

Batičić Pučar, Lara; Detel, Dijana; Varljen, Jadranka

Source / Izvornik: **Arhiv za higijenu rada i toksikologiju, 2012, 63, 75 - 99**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

<https://doi.org/10.2478/10004-1254-63-2012-2185>

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:852216>

Rights / Prava: [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



DIPEPTIDIL-PEPTIDAZA IV (DPP IV/CD26) I UPALNE BOLESTI CRIJEVA

Lara BATIČIĆ PUČAR¹, Dijana DETEL¹ i Jadranka VARLJEN

Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Primljeno u prosincu 2011.
CrossCheck u prosincu 2011.
Prihvaćeno u siječnju 2012.

Upalne bolesti crijeva (Crohnova bolest, ulcerozni kolitis, nedeterminirani kolitis) skupina su kroničnih autoimunskih upalnih bolesti obilježenih ponavljanjem upalama različitih dijelova gastrointestinalnog trakta koje su važan javnozdravstveni problem današnjice. Unatoč brojnim temeljnim i kliničkim istraživanjima etiologija ovih bolesti, kao i sama patogeneza upale ostaju nedovoljno razjašnjene. Dosadašnja su istraživanja potvrdila uzročno-posljedičnu vezu između medijatora upalnog odgovora i molekula uključenih u regulaciju njihove biološke aktivnosti, osobito proteaza. Cilj ovoga preglednog rada jest sažeti prikaz dosadašnjih saznanja o različitim aspektima upalnih bolesti crijeva, s posebnim naglaskom na potencijalnu ulogu i uključenost dipeptidil-peptidaze IV, odnosno molekule CD26 (DPP IV/CD26) u mehanizme nastanka upalnih procesa u probavnom sustavu. Dan je i pregled životinjskih modela kolitisa koji su znatno pridonijeli razumijevanju i terapiji ovih bolesti, s osobitim naglaskom na mišji model ulceroznog kolitisa (DSS-kolitis) te Crohnove bolesti (TNBS-kolitis).

KLJUČNE RIJEČI: *Crohnova bolest, DSS-kolitis, molekula CD26, TNBS-kolitis, ulcerozni kolitis, životinjski modeli upalnih bolesti crijeva*

Upalne bolesti crijeva (UBC) skupina su kroničnih autoimunskih upalnih bolesti nedovoljno poznate etiologije, obilježene ponavljanjem upalama različitih dijelova gastrointestinalnog trakta i nepredvidim tijekom (1). Bolest se može pojaviti u bilo kojoj dobnoj skupini i u oba spola, a zbog neprestanog porasta incidencije i povezanosti s brojnim izvancrijevnim manifestacijama u velikoj mjeri smanjuje kvalitetu života oboljelih i velik je javnozdravstveni problem današnjice (2, 3).

U ovisnosti o zahvaćenom odsječku probavnog sustava te proširenosti i trajanju upale, u kliničkoj se praksi razlikuju dva patomorfološka oblika UBC-a: Crohnova bolest (CB) i ulcerozni kolitis (UK). Glavne razlike između ovih bolesti jesu njihova lokalizacija,

priroda upalnih promjena, imunopatološke osnove te patogeneza (4). Najstarija saznanja o CB-u i UK opisuju ih kao jedinstvenu bolest koja zahvaća crijeva, a kao zasebni entiteti jasno se opisuju zadnjih stotinjak godina. Međutim iako su u kliničkoj praksi CB i UK prepoznati kao dvije zasebne bolesti s različitim kliničkim, anatomskim i histološkim karakteristikama, zbog nemogućnosti jasne klasifikacije u jedan od oblika UBC-a, 10 % do 15 % oboljelih svrstava se u kategoriju "nedeterminirani kolitis" (5), jer je unatoč velikom napretku medicinske znanosti još i danas u mnogim slučajevima teško povući granicu i postaviti točnu dijagnozu, kao i uzrok nastanka bolesti (6).

Dosadašnja su istraživanja potvrdila uzročno-posljedičnu vezu između medijatora upalnog odgovora te molekula uključenih u regulaciju njihove biološke

¹ Autori su jednako vrijedni

aktivnosti, osobito proteaza. Postoje dokazi o potencijalno vrlo važnoj ulozi dipeptidil-peptidaze IV odnosno molekule CD26 (DPP IV/CD26) u mehanizmima nastanka UBC-a te povezanosti ove molekule s jačinom i aktivnošću bolesti (7-9). Cilj je ovoga preglednog rada sažeti prikaz dosadašnjih saznanja o različitim aspektima UBC-a, s posebnim naglaskom na potencijalnu ulogu i uključenost multifunkcionalne molekule DPP IV/CD26 u mehanizme nastanka upalnih procesa u probavnom sustavu. Dan je i pregled životinjskih modela UBC-a koji su znatno pridonijeli razumijevanju i terapiji ovih bolesti s osobitim naglaskom na mišji model UK izazvan natrijevim dekstran-sulfatom te mišji model CB-a uzrokovan trinitrobenzensulfonskom kiselinom.

UPALNE BOLESTI CRIJEVA

Epidemiologija

Epidemiološka istraživanja upućuju na visoku incidenciju CB-a i UK u industrijaliziranim zemljama poput skandinavskih zemalja, Velike Britanije, sjeverozapadne Europe, Sjeverne Amerike i Australije te nisku incidenciju u sjevernoj i srednjoj Africi, Aziji i Južnoj Americi (10). Međutim različita stopa incidencije može označavati i različitu gensku pozadinu stanovnika različitih područja Zemlje. Unatoč tomu, okolišni čimbenici igraju vrlo važnu ulogu, a u prilog tomu govore podaci o rastućoj incidenciji bolesti kod imigranata iz zemalja niske incidencije u zemlje visoke incidencije (11).

UBC pokazuje bimodalnu dobnu distribuciju. Najčešće se dijagnosticira u dobi između petnaeste i četrdesete godine života, ali se pojavljuje još jedna manje izražena učestalost pojave bolesti između pedesete i osamdesete godine života. UBC se javlja češće u adolescenata nego u mlađe djece; početak je bolesti prije desete godine života rijedak, u svega oko 2 % slučajeva, a u 30 % slučajeva pojavljuje se kod mladih ljudi u dobi između deset i devetnaest godina. Nadalje, bolest podjednako zahvaća i muškarce i žene, ali je UK nešto učestaliji kod muškaraca, dok je CB nešto češći kod žena. Populacijska istraživanja pokazala su da je UBC učestaliji u pripadnika bijele rase nego u crnoj i orijentalnoj rasi. Zapažena je viša incidencija kod Židova nego kod ostalih populacija koje žive u istoj regiji (12).

Incidencija i prevalencija upalnih bolesti crijeva u svijetu te u Republici Hrvatskoj zadnjih desetljeća značajno rastu, na što upućuju novija epidemiološka istraživanja (13). Incidencija upalnih bolesti crijeva u svijetu kreće se od 1,6 do čak 24,5 na 100000 stanovnika za UK te od 0,9 do 9,2 na 100000 stanovnika za CB (14). U Hrvatskoj incidencija UK iznosi 4,3 na 100000 stanovnika, dok incidencija CB-a iznosi 7,0 na 100000 stanovnika (15).

Etiologija i čimbenici rizika

Unatoč brojnim temeljnim i kliničkim medicinskim istraživanjima etiologija UBC-a, kao i čimbenici koji dovode do nastanka pojedinoga patomorfološkog oblika bolesti, do danas nisu sasvim poznati. Postoji nekoliko čimbenika rizika za koje je dokazana uzročno-posljedična povezanost s UBC-om, a dosadašnje spoznaje upućuju na to da genski čimbenici i uvjeti okoliša poput prehrane, mikroorganizama i načina života mogu biti značajno uključeni u njezin razvoj (16). Kako je zasigurno riječ o multifaktorskoj bolesti, ne može se sa sigurnošću utvrditi koji je od čimbenika rizika presudan u nastanku i razvoju upale u gastrointestinalnom sustavu. Međutim općenito je prihvaćena pretpostavka da bolest nastaje kao neadekvatan, odnosno pretjeran imunosni odgovor na određene bakterijske antigene ili antigene iz hrane kod genetski predisponiranih pojedinaca pod utjecajem čimbenika okoliša (11).

Među najvažnijim čimbenicima rizika od nastanka UBC-a ističu se genetska predispozicija, imunoregulacijske nepravilnosti, čimbenici ranog djetinjstva, izloženost infekcijama u dječjoj i odrasloj dobi, prehrana, životne navike te tzv. zapadnjački način života (1, 16). Bolest je jasno povezana s urbanim načinom života, razvijenijim zemljama i teorijom tzv. "pretjerane higijene", a češća je u regijama sjevernih zemljopisnih širina (17).

Genetska predispozicija

Važna karika u nastanku upalnih procesa u probavnom sustavu jest genetska predispozicija (18), a vjeruje se da su CB i UK heterogene poligenske bolesti koje dijele neka područja genske podložnosti (19). Najvjerojatnije je fenotip UBC-a određen s nekoliko faktora, uključujući i interakciju među alelima, kao i utjecaj ostalih gena i čimbenika okoliša. Posljedično tomu, prisutnost jednoga mutiranoga gena ne znači da će sa sigurnošću doći do razvoja UBC-a, niti predodređuje pojedinca kod kojeg će doći do razvoja bolesti (1, 20).

Utvrđeno je nekoliko gena za koje je dokazano postojanje značajne povezanosti s nastankom UBC-a. Osobito se ističu geni na kromosomu broj 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 14, 16, 19 te kromosom X (21, 22). Jedan od gena najjasnije povezanih s patogenezi UBC-a je IBD-1, koji je područje podložnosti na pericentromerskoj regiji kromosoma 16 (23). Detaljnijim analizama utvrđena je oligomerizacijska domena 2 koja veže nukleotid (engl. *nucleotide-binding oligomerization domain 2*, NOD2), odnosno gen koji kodira sekvencu odgovarajućeg NOD2-proteina. NOD2, poznat i kao CARD15 (engl. *caspase activation and recruitment domain 15*, CARD15). To je polimorfni gen čiji je produkt uključen u regulaciju imunskih zbivanja te je prvi otkriveni gen s utvrđenom jasnom uzročno-posljedičnom vezom s UBC-om (24). Do danas je otkriveno više od 60 mutacija ovoga gena među kojima su 3 neposredno povezana s razvojem CB-a (25). Procjenjuje se da je defekt NOD2-gena prisutan u 17 % do 27 % oboljelih od CB-a (24). Međutim nije sasvim jasan mehanizam koji povezuje mutacije ovoga gena i UBC (1).

Istraživanja vezana uz CB i UK pokazala su veći stupanj obolijevanja u monozigotnih blizanaca nego u dizigotnih. Međutim pokazano je da je stopa pojavnosti bolesti u blizanaca veća za CB, što je dovelo do zaključka o snažnijem utjecaju genskih komponenata (19). Saznanja dobivena istraživanjima provedenima na blizancima upozorila su na činjenicu da UBC ne slijedi karakteristično Mendelovo pravilo nasljeđivanja, već su kompleksnoga poligenskoga podrijetla (23).

Kod UBC-a izražena je obiteljska tendencija razvoju bolesti, a pojavnost UBC-a unutar iste obitelji iznosi 20 do 30 %. Postoji povećana prevalencija UBC-a među rođacima prvog i drugog koljena. U obiteljima gdje postoji visoka stopa pojavnosti UBC-a, 75 % bolesnika obolijeva od istog oblika bolesti. Osim toga, uočena je veća pojavnost ostalih genski uvjetovanih bolesti kod oboljelih od UBC-a.

Poremećaji imunoregulacijskih mehanizama

UBC je karakteriziran imunoregulacijskim nepravilnostima mukoze, najvjerojatnije genetski predodređenima, za koje se pretpostavlja povezanost s bakterijskim antigenima prisutnima u crijevu (26). Fiziološka povezanost između komenzalnih bakterija u crijevu i organizma domaćina simbiotska je (20), a u zdravom epitelu crijeva postoji tolerancija na prisutnost potencijalno proupalnih komponenata luminalnih bakterija. Postoji nekoliko teorija koje

djelomično daju mogući odgovor na problematiku poremećaja imunoregulacije u crijevu: disfunkcija imunskog odgovora organizma prema uobičajenim sadržajima lumena crijeva, infekcija specifičnim patogenom i/ili poremećaj u propusnosti mukozne barijere, odnosno povećan protok luminalnih antigena u unutarnje slojeve stijenki crijeva.

Neadekvatan imunski odgovor organizma prema uobičajenim sadržajima, odnosno antigenima u lumenu crijeva čini se najvjerojatnijim lokalnim patološkim mehanizmom koji dovodi do nastanka ranih događaja povezanih s razvojem upalnih promjena u UBC-u. U zdravom organizmu izloženost komenzalnim bakterijama utišava izražaj proupalnih gena i sprječava aktivaciju imunskog odgovora usmjerenog na velik broj prisutnih bakterijskih antigena, kao i antigena podrijetlom iz hrane (27). Kod oboljelih od UBC-a ne postoji ova tolerancija imunskog sustava na antigene prisutne u crijevu, već izloženost luminalnoj mikroflori dovodi do pretjerane aktivacije imunskog sustava organizma, osobito imunskih stanica prisutnih u mukozi crijeva, što dovodi do kroničnoga, destruktivnog upalnog procesa (28).

Infekcija specifičnim patogenom koja dovodi do nastanka UBC-a zasad nije sa sigurnošću utvrđena, no postoje indicije da određene patogene bakterije, poput *Mycobacterium paratuberculosis*, *Listeria monocytogenes* i *Helicobacter hepaticus* (28) mogu biti uključene u patogenezu UBC-a. Nekoliko objavljenih znanstvenih članaka povezuje CB i preboljele ospice u ranoj životnoj dobi (21). Veća incidencija CB-a u zimskom periodu također upućuje na povezanost bolesti s određenim patogenim mikroorganizmima (29). Nadalje, pokazano je da laboratorijske životinje čuvane u specifičnim sterilnim uvjetima ne mogu oboljeti od UBC-a, dok isti sojevi laboratorijskih životinja u uobičajenim uvjetima, dakle uz prisutnost komenzalnih bakterija, obolijevaju od UBC-a induciranjem modela bolesti (30). Čak i infekcijom laboratorijskih životinja čuvanih u specifičnim sterilnim uvjetima jednim ili s nekoliko bakterijskih sojeva, nakon indukcije bolesti ubrzo dolazi do razvoja upalnih promjena u crijevu (31). Nadalje, pokazano je postojanje različitih imunoregulacijskih odgovora na jedan te isti bakterijski soj. Stoga se može zaključiti da su u oboljelih od UBC-a različiti bakterijski sojevi uključeni u nastanak upalnih promjena kod različitih pojedinaca (1, 31, 32).

Brojna epidemiološka istraživanja definirala su UBC kao „bolest prekomjerne čistoće“. Za razliku od ostalih poligenских, imunosno posredovanih bolesti poput astme, multiple skleroze i reumatoidnog artritisa, UBC pokazuje obrnuto proporcionalnu povezanost sa stupnjem čistoće. Naime, niži stupanj čistoće, osobito u ranijoj životnoj dobi, čini se protektivnim u etiopatogenezi, s obzirom na to da djeca koja odrastaju u višim socioekonomskim standardima imaju veću predispoziciju za razvoj UBC-a (33). Ova se pojavnost tumači činjenicom da poboljšana ili pak pretjerana higijena utječe na mikrobiološku floru općenito, a time i na luminalne bakterije, što jednostavno dovodi do smanjene izloženosti određenim kritičnim bakterijskim sojevima te razvoja netolerancije prema njima (32, 34).

Nedostatna funkcija crijevnog epitela u oboljelih od UBC-a dokazano je povezana s povećanom permeabilnošću epitela crijeva za različite antigene, što dovodi do stimulacije imunosnog sustava mukoze (28). Kod ljudi površina crijeva iznosi od 150 do 200 četvornih metara, što je golema površina koja je svakodnevno izložena različitim antigenima, uključujući i približno 10^{14} mikroorganizama koje nalazimo u lumenu crijeva (35).

Zdrav epitel crijeva s čvrstim poveznicama među stanicama tvori učinkovitu barijeru protiv prodiranja luminalnih mikroorganizama i različitih antigena u dublje slojeve crijeva. Međutim ako zbog promjene u propusnosti crijevnog epitela bakterijski produkti i/ili antigeni prodru u unutrašnjost crijeva, dolazi do direktnog kontakta s imunosnim stanicama i aktivira se imunosni odgovor (20). Potom dolazi do lučenja proupalnih citokina, što će ponovno stimulirati novačenje dodatnih stanica u slojevima crijeva. Navedeni mehanizam obuhvaća citokine koji sudjeluju u oslabljivanju čvrstih veza između endotelne stanice, što naposljetku olakšava nakupljanje neutrofila iz periferne cirkulacije u mukozu crijeva (27).

Istraživanja koja uključuju životinjske modele UBC-a upozorila su na tendenciju razvoja snažnih upalnih procesa upravo u područjima gdje postoje poremećaji propusnosti sluznice crijeva (23). Bakterije iz lumena crijeva zatim dodatno pojačavaju defekt poremećaja propusnosti crijeva, što naposljetku stvara začarani krug koji rezultira ponavljanjem upalnim procesima gastrointestinalnog trakta (29).

OSTALI ČIMBENICI RIZIKA

Zapadnjački način života

Područja s najvećom prevalencijom oboljelih od UBC-a jesu razvijene, industrijalizirane zemlje (3). Isto tako, zabilježen je veći broj oboljelih u gradskim nego u ruralnim sredinama, a postoji i varijacija incidencije i prevalencije na relaciji sjever-jug. Zanimljivost je pak porast incidencije u zemljama južnih regija, poput Azije. Izraziti porast broja novooboljelih u dvadesetom stoljeću govori u prilog teoriji utjecaja okolišnih čimbenika na pojavnost bolesti (36). Vjeruje se da su ove pojave zapravo posljedica prihvatanja zapadnjačkog načina života, poput promjena u prehranbenim navikama, pušenja, izloženosti sunčevim zrakama, onečišćenja okoliša te industrijalizacije (10).

Također, jedan od aspekata zapadnjačkog načina života te čimbenika koji može pridonijeti pojavnosti UBC-a jest i zanimanje pojedinca (1). Veći postotak obolijevanja i smrtnosti od UBC-a zapažen je kod zaposlenika koji obavljaju stresne poslove i imaju zanimanja koja iziskuju veću psihičku napetost, osobito ona sjedilačkog tipa. S druge strane, nešto manja stopa pobolijevanja od UBC-a zabilježena je kod zaposlenika koji se bave poljoprivrednim zanimanjima i obavljaju poslove koji su obilježeni boravkom na otvorenom prostoru (37, 38).

Utjecaj prehrane

Teorija o postojanju određenih antigena iz hrane, ali i bakterijskih, koji mogu potaknuti kaskadu imunosnih reakcija koje naposljetku dovode do upalnih promjena u gastrointestinalnom traktu općeprihvaćena je, međutim ne postoje točna saznanja o kojim je antigenima riječ (39). Istraživanja vezana uz prehranu i etiopatogenezu UBC-a općenito su nedorečena, a često i nekoherentna. Međutim kvaliteta prehrane nedvojbeno je čimbenik koji utječe na razvoj i tijek UBC-a (40). Prehrana temeljena na namirnicama s visokim sadržajem zasićenih masnih kiselina i rafiniranih ugljikohidrata, prema objavljenim istraživanjima može povećati rizik od obolijevanja od UBC-a čak tri do četiri puta (41). S druge strane, namirnice s visokim sadržajem višestrukonezasićenih masnih kiselina, osobito omega-3, poput eikozapentaenske i dokozaheksaenske kiseline, mogu djelovati preventivno, ali i djelomično kurativno kod oboljelih od UBC-a pa i drugih kroničnih bolesti (42).

Pušenje

Među svim čimbenicima okoliša potencijalno uključenim u etiopatogenezu UBC-a najčvršći dokazi postoje za utjecaj pušenja (43). Povezanost pušenja duhanskih proizvoda i patogeneze UBC-a kompleksna je, no brojna su istraživanja potvrdila istu činjenicu: pušenje je protektivni faktor kod oboljelih od UK, dok je s druge strane čimbenik rizika i pridonosi nastajanju i egzacerbaciji CB-a (44). Ovi su utjecaji, čini se, ovisni o količini duhanskog dima koja se aktivno ili pasivno unosi u organizam, a rezultati su koherentni u različitim zemljopisnim područjima (45). Paradoksalno, osobe koje su prestale pušiti imaju 1,7 puta veći rizik od razvoja UK od osoba koje nikada nisu pušile duhanske proizvode. Isto tako, bivši pušači češće bivaju hospitalizirani za razliku od aktivnih pušača, a vjerojatnost da će biti podvrgnuti kolektomiji dvostruko je veća nego kod oboljelih koji nikada nisu bili aktivni pušači (46).

Dotadni čimbenici rizika potencijalno povezani s patogenezi UBC-a jesu činjenica je li osoba dojena u novorođenačkoj dobi, cijepljenja i bolesti u ranom djetinjstvu, uzimanje farmaceutskih pripravaka (ponajviše antibiotika, oralnih kontraceptiva i nesteroidnih protuupalnih lijekova), prethodna apendektomija, infekcije crijevnim parazitima, stres te ostali čimbenici vezani uz okoliš i način života pojedinca (16). Međutim rezultati istraživanja na ovom području proturječni su, često i kontroverzni. Iako postoji povezanost čimbenika rizika s patogenezi UBC-a, još nije definirana njihova točna uzročno-posljedična povezanost (47).

Patogeneza upalnih bolesti crijeva

CB i UK najvjerojatnije nastaju kao posljedica genetske predispozicije koja uzrokuje abnormalni imunski odgovor na luminalne mikroorganizme s pomoću raznih čimbenika okoliša. Tip imunskog odgovora odredit će ekspresiju bolesti. Najvjerojatnije promijenjena sluznica crijeva kod UK te abnormalna epitelna permeabilnost kod obje bolesti olakšavaju pristup produktima metabolizma te bakterijskim produktima u podsluznicu. Ovdje ih prerađuju stanice koje prezentiraju antigen (APC), što dovodi do ekspresije antigena na staničnoj površini limfocita T i njihove aktivacije. Kod zdravih će osoba posljedični rezultat biti imunski tolerancija, odnosno kontrolirana upala. U slučaju UBC-a, zbog poremećaja u imunoregulaciji, doći će do nekontroliranog i prolongiranog upalnog odgovora. Pretpostavlja se da

je ključni trenutak poremećene imunoregulacije manjak supresorskih limfocita T. Iako nema direktnog dokaza o defektnoj T-staničnoj regulacijskoj ulozi ni u CB-u ni u UK, dokazano je da je prirođena imunost nedostatna u CB-u (30).

Nadalje, povećan izražaj nuklearnih transkripcijskih faktora uvjetuje prekomjerno lokalno nakupljanje posrednika upale, kao što su citokini, leukotrijeni, tromboksani, čimbenici rasta, prostaglandini, neuropeptidi, dušikovi oksidi, aktivatori trombocita te proteaze. Oštećenje sluznice pak olakšava prodiranje luminalnog sadržaja u unutrašnje slojeve, što pojačava upalni odgovor.

Različitu imunsku pozadinu dvaju oblika UBC-a jasno potvrđuju patohistološke promjene poput granuloma u CB-u i neutrofilne infiltracije s destrukcijom epitela u UK. Za CB karakterističan je tip Th1 imunskog odgovora koji uključuje lučenje IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-8 i IL-12. Th1-stanični odgovor novijim je istraživanjima proširen utjecajem medijatora Th17-immunskog odgovora, koji je pod regulacijom IL-17 (31). Lučenje IL-17 stimulirano je lučenjem IL-6, TGF- β te IL-23 od strane prirođenih imunskih stanica i APC-a, osobito dendritičkih stanica. Bakterijska kolonizacija stimulira ekspresiju IL-23-gena u dendritičkim stanicama ileuma (32), a dokazane su povišene koncentracije IL-23 i IL-17 u CB-u. Koncentracija IL-27, citokina povezanog s IL-12, također je povišena u oboljelih od CB-a. Nadalje, lučenje IL-21 inducirano je s IL-12 te je također povišeno u CB-u. Poput IL-12, i IL-21 stimulira T-bet, intracelularni transkripcijski faktor koji je ključan u Th1-staničnoj diferencijaciji i aktivaciji (33).

S druge strane, za UK je karakterističan atipičan Th 2-tip imunskog odgovora, koji daje uglavnom humoralni imunski odgovor, a posredovan je lučenjem citokina poput IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 (10). Stoga je logična povezanost UK s autoimunskim bolestima poput Hashimotova tiroiditisa i sistemskog eritematoznog lupusa. Povećana humoralna imunost kod UK obilježena je i visokim koncentracijama imunoglobulina te povećanom proizvodnjom autoantitijela (npr. p-ANCA, engl. *perinuclear neutrophil cytoplasmic antibody*).

Aktivacija NF κ B stimulira izražaj mnogobrojnih molekula relevantnih za patogenezu UBC-a. Najvažniji medijatori upalnih procesa među njima jesu IL-1 β , TNF, IL-6, IL-8 i ostali kemokini, ICAM1 i druge adhezijske molekule te kostimulacijske molekule, uključujući CD40, CD80, CD86 i inducibilni T-stanični kostimulator (ICOS). Ekspresija svih ovih

proupalnih medijatora povećana je u UBC-u (34). S druge strane, koncentracije citokina koji induciraju Th1 i Th17-imunost odgovore povišene su u CB-u, ali ne i u UK. Dok je razina IFN- γ u mukozi oboljelih od CB-a povišena, kod oboljelih od UK nije značajnije izmijenjena (35). Koncentracije citokina povezanih s generalnom upalom, poput IL-1, IL-6 i TNF- α , povišene su u oba oblika UBC-a.

Istraživanja na molekularnoj razini značajno su pridonijela novim saznanjima o mehanizmima nastanka UBC-a. Dosadašnja su istraživanja, uključujući i ona koja obuhvaćaju bolesnike te istraživanja provedena na životinjskim modelima upalnih bolesti crijeva, pokazala da proteaze imaju važnu, ali još nedovoljno jasnu ulogu u patogenezi UBC-a (48, 49). Pokazano je da peptidaze stanične površine imaju presudnu ulogu u razgradnji medijatora uključenih u održavanje integriteta sluznice, kao i u nastanku upalnih promjena (50, 51). Među njima nalazi se i dipeptidil-peptidaza IV (DPP IV), odnosno molekula CD26 (DPP IV/CD26) (52), član porodice prolin-selektivnih dipeptidil-peptidaza.

PORODICA PROTEINA SLIČNIH DIPEPTIDIL-PEPTIDAZI IV

Prolin-selektivne dipeptidil-peptidaze skupina su serinskih proteaza koje sudjeluju u regulaciji različitih biokemijskih procesa putem hidrolize N-terminalnih dipeptida s polipeptidnih i proteinskih lanaca koji sadržavaju aminokiselinu prolin na pretposljednem mjestu (53). Porodicu DPP IV proteina čine DPP IV/CD26, FAP (protein aktivacije fibroblasta), DPP8 i DPP9 te DPL1 i DPL2, koji nemaju enzimsku ulogu (tablica 1). Nazivaju se još i „homolozi aktivnosti i strukture dipeptidil-peptidaze IV“ (engl. *dipeptidyl peptidase IV activity and structure homologues*), zbog slične enzimске aktivnosti i/ili strukturne podudarnosti te visoke homologije na razini DNA i aminokiselina (54). Preklapanje specifičnosti prema supstratima te određenih komponenata strukture upućuje na njihovu važnost u smislu kooperacije, interakcije s ostalim biološki važnim molekulama, kao i evolucijske očuvanosti (55).

Protein aktivacije fibroblasta alfa (FAP- α , sepraza) dijeli oko 50 % sličnosti u sekvenciji s DPP IV i sadržava gotovo identičan broj (760) aminokiselina. Gen koji kodira ovaj protein nalazi se u neposrednoj blizini gena za DPP IV (2q24.3). Poput DPP IV,

enzimska aktivnost FAP- α ovisna je o dimerizaciji (56). Osim što ima aktivnost sličnu DPP IV FAP- α ima endopeptidaznu sposobnost cijepanja denaturiranog kolagena tipa I i III, zbog čega mu se pripisuje mogućnost regulacije izvanstaničnog matriksa tumorskog mikrookoliša (57). Međutim za razliku od DPP IV, FAP- α izražen je na relativno ograničenom broju tkiva, i to onima koja ulaze u procese remodeliranja i regeneracije, poput određenih stanica jetre i embrionalnih mezenhimalnih stanica. Izražen je na više od 90 % stanica humanih epitelnih karcinoma, poput karcinoma pankreasa, dojki, pluća i kolona (55, 58). Miševi s deficitom FAP- α normalnog su fenotipa što se tiče tjelesne težine, težine organa, histoloških karakteristika glavnih organa, kao i hematoloških osobina (59).

DPP8 i DPP9 ubikvitarno su izraženi enzimi s dipeptidil-peptidaznom aktivnošću sličnom DPP IV. Dije 26 % aminokiselinske homolognosti s DPP IV i FAP- α , a međusobno su 61 % homologni (60). DPP8 i DPP9 solubilni su citoplazmatski proteini za razliku od DPP IV/CD26 i FAP- α . Izražaj glasničke RNA DPP8 i DPP9 pokazuje široku distribuciju u humanim tkivima s najvišom koncentracijom u testisima i posteljici za DPP8 te u skeletnim mišićima, srcu, jetri i leukocitima periferne krvi za DPP9. Izražaj DPP8 i DPP9 u miša pronađen je u kolonu, mozgu, koži i timusu (61).

DPL1 i DPL2 članovi su porodice DPP IV bez enzimskih svojstava zbog nedostatka triptofana i nukleofilnoga serinskog ostatka potrebnih za katalitičko djelovanje. Izraženi su u mozgu i organima endokrinog sustava. DPL1 se prvotno nazivao DPPX i DPP6. Dosadašnja saznanja o njihovim funkcijama nedostatna su, no vjeruje se da je DPL1 važan u organogenezi. Poznato je da nedostatak DPL1-gena u miša uzrokuje letalan ishod u homozigotnih embrija, dok u heterozigota uzrokuje defekt pigmentacije (62).

DIPEPTIDIL-PEPTIDAZA IV/MOLEKULA CD26 (DPP IV/CD26)

Obilježje membranski vezanih peptidaza jest posjedovanje specifičnog profila izražaja u pojedinim tkivima, vrstama stanica ili pak staničnim dijelovima, što odražava funkciju svake pojedine stanice. Kod nekih je membranski vezanih proteaza pronađen i topljivi analog koji se može locirati intracelularno i ekstracelularno, uključujući i biološke tekućine poput

Tablica 1 Karakteristike članova porodice humanih proteina sličnih DPP IV (prilagođeno prema ref. 63)

Svojstvo	DPP IV	FAP	DPP8	DPP9
Hidroliza X-Gly-Pro	✓	Slabo	✓	✓
Hidroliza X-Ala-Pro	✓	✓	✓	✓
Hidroliza X-Arg-Pro	✓	✓	Slabo	Slabo
Razgradnja kemokina	✓	NP	NP	NP
Želatinazna aktivnost (kolagen tipa I)	×	✓	×	×
Dimerni oblik	✓	✓	×	×
Vežanje adenzin-deaminaze	✓	×	×	×
Izražaj mRNA u tkivima odraslih osoba	Ubikvitarno	Ubikvitarno	Ubikvitarno	Ubikvitarno
Izražaj proteina u tkivima odraslih osoba	Ubikvitarno	Serum, gušterača	NP	NP
Izražaj proteina na aktiviranim fibroblastima	✓	✓	NP	NP
Izražaj na fetalnim mezenhimalnim stanicama	✓	✓	NP	NP
Izražaj na aktiviranim Itovim stanicama jetre	×	✓	NP	NP
Izražaj na limfocitima	✓	×	✓	✓

✓, DA; ×, NE; NP, nije poznato

seruma, urina, sline, sjemene i amnionske tekućine (54).

Tipičan predstavnik membranski vezanih proteaza je DPP IV/CD26 (EC 3.4.14.5). Nalazimo je izraženu na površini brojnih stanica tkiva različitih organa, ali i u cirkulaciji, na sistemskoj i lokalnoj razini. Specifičnost ove molekule jest mogućnost cijepanja dipeptida s N-terminalnog dijela lanca biološki važnih supstrata koji na pretposljednem mjestu u primarnoj strukturi odnosno sekvenciji aminokiselina sadržavaju prolin ili alanin (64).

Dugi niz godina vjerovalo se da je glavna uloga DPP IV/CD26 razgradnja konačnih metabolita u procesu probave. Pripisivala joj se jedinstvena uloga u metabolizmu polipeptida s visokim sadržajem prolina. Brojnim daljnjim istraživanjima utvrđena je njezina važna uloga i u imunskom odgovoru organizma (65). Nakon dobivenih saznanja o biološkim učincima važnih bioaktivnih molekula, supstrata DPP IV/CD26 te mogućnosti njihove aktivacije odnosno inaktivacije, što dovodi do modulacije neuroimunobiokemijskog odgovora organizma, istraživanja vezana uz ovu molekulu eksponencijalno su rasla (66).

Prvi opis DPP IV/CD26 zabilježen je 1966. u znanstvenoistraživačkom radu Hopsu-Havua i Glennera koji su u homogenatu jetre štakora otkrili enzim sa svojstvom otpuštanja naftilamina iz Gly-Pro-2-naftilamida. Zbog navedenog su svojstva ovaj enzim nazvali glicil-prolin naftilamidaza (67). Shrader i

Stacy otkrili su 1977. funkciju vezanja neodređenog proteina s adenzin-deaminazom (ADA) te ga nazvali protein koji veže adenzin deaminazu (engl. *adenosin deaminase binding or complexing protein*, ADAbp, ADAcp). Tek je 1993. utvrđeno da je riječ o kompleksu DPP IV-ADA (68).

Godine 1977. prvi je put dokazana aktivnost DPP IV na limfocitima periferne krvi (69). Jedanaest godina kasnije otkriveno je da je DPP IV identična leukocitnom površinskom antigenu CD26, nakon čega je nekoliko monoklonskih protutijela koja prepoznaju DPP IV grupirano pod nazivom "CD26". Godinu dana kasnije utvrđeno je da se DPP IV sastoji od dvije jednake podjedinice, od kojih svaka sadržava svoje aktivno središte (70).

Ova je molekula godine 1985. karakterizirana kao receptor za kolagen i fibronektin (71). S obzirom na to da je slijed aminokiselina Gly-Pro učestao u kolagenu, pretpostavilo se da ima važnu metaboličku ulogu u biokemijskim procesima u kojima je uključen kolagen. Međutim kako je ustanovljeno da DPP IV/CD26 nema sposobnost cijepanja Pro-Pro i Pro-Hyp veza koje ponajviše slijede Gly-Pro sekvence u kolagenu, točna fiziološka uloga ovog enzima dugo je ostajala nepoznata (72).

Daljnjim istraživanjima ove molekule cjelokupna cDNA humane CD26 prvi je put objavljena 1992. godine (73). Godine 2001. pokazana je sposobnost direktnog vezanja CD26 na citoplazmatsku domenu tirozinske fosfataze, odnosno molekule CD45 (74). Današnja

saznanja opisuju molekulu CD26 kao transmembranski glikoprotein s funkcijom serinske proteaze te ujedno i jedinstven hematopoetski diferencijacijski antigen. DPP IV/CD26 jedini je član porodice proлил-oligopeptidaza čiji je izražaj pronađen na leukocitima (75). Daljnjim je istraživanjima dokazano da dijeli mnoga zajednička strukturna i regulacijska svojstva s molekulom CD10 (neutralnom endopeptidazom), molekulom CD13 (aminopeptidazom N) te molekulom BP-1/6C3 (aminopeptidazom A) (76).

Istraživanja provedena u posljednja tri desetljeća pokazala su široki spektar područja djelovanja i funkcionalnih osobitosti DPP IV/CD26 u biokemijskim, imunološkim i neuroendokrinim međudjelovanjima. U mnogim slučajevima, učinci ne moraju nužno biti vezani samo uz katalitičko djelovanje ove molekule, već uz brojne, dosad još nedostavno poznate, mogućnosti djelovanja na području stanične adhezije, međustanične komunikacije te prijenosa signala u stanicu (77).

Lokalizacija DPP IV/CD26

Molekula CD26 konstitutivno je izražena na brojnim stanicama različitih tkiva i organa poput gastrointestinalnog, neurološkog, reproduktivnog i ostalih organskih sustava. Imunohistokemijskim analizama, DPP IV/CD26 dokazana je gotovo u svim endotelnim stanicama kapilara različitih organa i tkiva (77). Humana DPP IV/CD26 relativno je ubikvitarna molekula, osobito izražena na zrelim timocitima, aktiviranim limfocitima T, B, NK-stanicama i makrofagima. Molekula CD26 izražena je na *in vivo* i *in vitro* aktiviranim CD4⁺ i CD8⁺ humanim limfocitima T (78). Otprilike 56 % CD4⁺ i 35 % CD8⁺ stanica limfocita periferne krvi, 74-81 % CD4⁺ te 12-19 % CD8⁺ limfocita T aktiviranih s pomoću fitohemaglutinina izražava CD26 (79). Izražena je i na mirujućim limfocitima T u znatno manjoj mjeri, ali njezin izražaj raste 5 do 10 puta nakon stimulacije antigenima poput anti-CD3 i interleukina 2 (IL-2) (62, 64). Najveća razina izražaja molekule CD26 pronađena je na imunskim stanicama koje izražavaju aktivacijske markere poput CD25, CD71, CD45RO te CD29 (80).

Izražaj molekule CD26 na limfocitima B vrlo je nizak, no također raste nakon stimulacije mitogenima ili proteinima *Staphylococcus aureus* (81). Poput limfocita T i B, i NK-stanice izražavaju CD26 u niskoj razini, ali se izražaj može povećati za oko 30 % stimulacijom s IL-2. Utvrđeno je da 10 % CD16⁺ svježih izoliranih NK-stanica izražava molekulu CD26

(82). Izražaj molekule CD26 utvrđen je i na klonovima stanica s NK-aktivnošću te subpopulacijama NK-stanica pacijenata nakon transplantacije koštane srži (83, 84). Podaci dobiveni uporabom inhibitora DPP IV/CD26 upućuju na činjenicu da je molekula CD26 uključena u regulaciju proliferacije NK-stanica, ali ne i u njihovu citotoksičnu ulogu (85).

Molekularna obilježja DPP IV/CD26

Gen koji kodira humanu DPP IV/CD26 nalazi se na dužem kraku drugog kromosoma (2q24.3). Dužina mu iznosi približno 70 kb, a sadržava točno 26 egzona, čija se veličina prostire od 45 b do 1,4 kb (86). Karakteristično je da se na 5' kraju ne nalaze ni TATA kutija ni CAAT kutija, no područje veličine oko 300 parova baza koje iznimno obiluje citozinom i gvaninom (oko 72 %) sadržava potencijalna vezna mjesta za nekoliko transkripcijskih faktora, poput NFκB, AP2 i Sp1 (86, 87).

Molekula DPP IV/CD26 humanog podrijetla klasificira se kao integralni transmembranski protein tipa II. Relativna molekulska masa dimera iznosi oko 240000, a sastavljena je od dva jednaka monomera. Sadržava ukupno 766 aminokiselina (u štakora 767), što je ustanovljeno sekvencioniranjem cDNA (88). Od ukupnog broja aminokiselina, 22 (VLLGLLGAAALVTIITVPVLL) otpadaju na transmembransku hidrofobnu domenu, na koju se nastavlja kratak intracelularni, hidrofilni ostatak sastavljen od svega šest aminokiselina (MKTPWK) na N-terminalnom kraju proteinskog lanca. Preostalih 738 aminokiselinskih ostataka sadržava devet potencijalnih glikozilacijskih mjesta.

Strukturna obilježja DPP IV/CD26

Transmembranski glikoprotein DPP IV/CD26 u organizmu se nalazi ponajviše u obliku dimera sastavljenog od dvije jedinice monomera od kojih svaka sadržava dvije podjedinice: alfa-betahidrolaznu domenu, koja obuhvaća aminokiselinske ostatke od 501. do 766. te betapropelernu domenu koja se prostire od 59. do 497. aminokiselinskog ostatka molekule DPP IV/CD26. DPP IV/CD26 posjeduje devet potencijalnih mjesta za glikozilaciju koja se nalaze najvećim dijelom na betapropelernoj domeni, u blizini područja dimerizacije (89). Slika 1, prilagođeno prema (90), prikazuje shematsku strukturu dimerizirane transmembranske DPP IV/CD26.

Kristalna struktura DPP IV/CD26 pomogla je u rasvjetljavanju funkcionalne uloge dimerizacije DPP

IV/CD26. Naime, pokazano je da dimerizacija nije nužna za oblikovanje aktivnog središta. S druge strane, dimerizacija i tetramerizacija utječu na ostale komponente, uključujući supstrate proteolize te vezanje adenozin-deaminaze, a najvjerojatnije i mogućnost međustanične komunikacije. Osim toga, dimerizacija DPP IV/CD26 pojačava afinitet receptora prema ligandu, što može biti od iznimne važnosti u procesima prijenosa signala u stanicu (89).

Osim dimerizacije, detaljnijim istraživanjima otkrivena je i sposobnost oligomerizacije membranski vezane i solubilne DPP IV/CD26. Zbog geometrijske specifičnosti tetramerizacija na površini stanice zahtijeva membranski vezani i solubilni oblik DPP IV/CD26, lociran na površini dviju različitih stanica. DPP IV/CD26 može na ovaj način sudjelovati u međustaničnoj komunikaciji, i to na način da modulira kontakt između dviju stanica u procesu međusobne komunikacije putem tetramerizacije dvaju DPP IV/CD26 dimera prisutnih na njihovoj površini. Važnu ulogu u ovom procesu može imati i solubilni oblik ove molekule, s obzirom na to da može interferirati u vezanju membranski vezanih oblika.

Solubilna DPP IV/CD26

Osim u membranski vezanom obliku na površini različitih stanica, DPP IV/CD26 prisutna je u solubilnom (topljivom) obliku u cirkulaciji (u serumu), slini, urinu, sinovijalnoj tekućini, sjemenoj i amnionskoj tekućini te ostalim biološkim tekućinama. Podrijetlo solubilne DPP IV/CD26 nije sa sigurnošću utvrđeno, ali pretpostavlja se da potječe s površine stanica koje su u doticaju s krvlju. Vjeruje se da postoji proteolitički mehanizam koji pridonosi otpuštanju membranski vezane DPP IV/CD26 u cirkulaciju, no zasad nije poznat (55).

Solubilna DPP IV/CD26 pleiotropna je molekula koja zadržava identična proteolitička svojstva poput membranski vezane. Razlikuju se u nedostatku 22-iju aminokiselina transmembranskog dijela te 6 aminokiselina unutarstaničnog dijela cjelovite DPP IV/CD26 (63).

Aktivno središte DPP IV/CD26

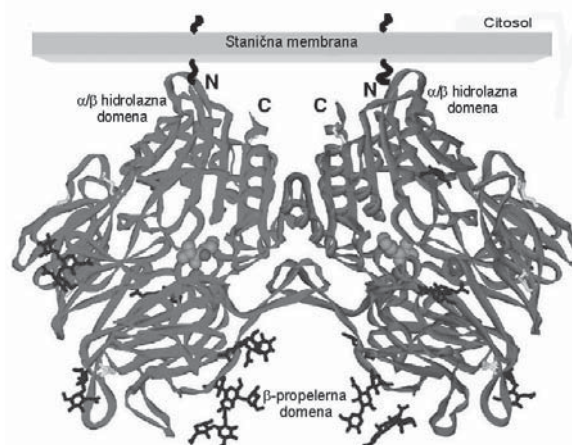
Aktivno središte DPP IV/CD26 čini katalitička trijada serin (aminokiselinski ostatak 630), asparaginska kiselina (aminokiselinski ostatak 708) te histidin (aminokiselinski ostatak 740). Osim toga, tirozinski ostatak hidrolazne domene nuždan je za katalitičku aktivnost ovog enzima, a kinetička istraživanja

pokazala su i da sudjeluje u stabilizaciji intermedijarnih oblika supstrata. Nadalje, dvije glutaminske kiseline, Glu205 i Glu206 sudjeluju u stvaranju međumolekularnih elektrostatskih veza s N-terminalnim dijelom supstrata, što ostavlja mjesta samo za dvije aminokiseline prije nego što peptid dospije do aktivnog mjesta. Ovaj mehanizam objašnjava i dipeptidilnu katalitičku aktivnost DPP IV/CD26 (91).

Betapropelerne domene prekriva aktivno središte te stoga djelomično ograničava pristup supstratima, što omogućuje i određenu regulaciju biološke aktivnosti ovog enzima. Postoje dva glavna puta do aktivnog središta molekule DPP IV/CD26: kroz prolaz β -propelerne domene te kroz bočni prolaz širine 14 Å do 15 Å (90). Udaljenost od površine DPP IV/CD26 do aktivnog središta iznosi 20 Å od bočnog prolaza te 37 Å od β -propelerne domene. Nakon razgradnje supstrata, nastali produkti napuštaju aktivno mjesto, a da pritom put ulaska i izlaska ne moraju biti jednaki (89).

Specifičnost prema supstratima

Mnoge biološki aktivne molekule poput citokina, kemokina, hormona, neuropeptida i faktora rasta sadržavaju evolucijski očuvani prolin na pretposljednem mjestu polipeptidnog lanca (92). Ovakva struktura omogućuje im relativno visoku mogućnost regulacije njihova biološkog djelovanja te postojanost u zaštiti razgradnje od strane enzima koji ne posjeduju prolin-specifičnu peptidaznu aktivnost (93). Međutim upravo ih ovakva struktura čini pogodnim supstratima za katalitičko djelovanje DPP IV/CD26 (72).



Slika 1 *Struktura transmembranske DPP IV/CD26 u obliku dimera, shematski prikaz (prilagođen prema ref. 90)*

Pokazano je da su peptidi manje molekulske mase vrlo dobri supstrati DPP IV/CD26. Porastom broja aminokiselina u primarnoj strukturi polipeptidnog lanca smanjuje se i mogućnost dopiranja do aktivnog središta, a time i mogućnost njihove katalitičke razgradnje od strane DPP IV/CD26 (51). Tablica 2. prikazuje popis i karakteristike značajnih regulacijskih peptida, supstrata DPP IV/CD26 u sisavaca.

Funkcije DPP IV/CD26

Uvriježena su četiri područja djelovanja DPP IV/CD26 u kojima, prema dosadašnjim saznanjima, ova molekula ostvaruje svoju biološku ulogu:

- 1) Proteoliza – u svojstvu serinske proteaze, DPP IV/CD26 sudjeluje u hidrolitičkoj razgradnji pojedinih biološki aktivnih peptida, a samim time u njihovoj aktivaciji i inaktivaciji. Na ovaj način može utjecati na modulaciju neuroimunobiokemijskog odgovora organizma u fiziološkim i patološkim procesima (64).
- 2) Uloga u međustaničnoj komunikaciji, komunikaciji između stanice i izvanstaničnog matriksa te međudjelovanja stanične površine i virusnih komponenata. DPP IV/CD26 opisuje se i kao protein koji veže kolagen i fibronektin (95), zatim kao koreceptor za HIV-1 u međudjelovanju s adenzin-deaminazom (96) te važan čimbenik metastaziranja tumora (97).
- 3) Prijenos signala u stanicu – pokazano je da DPP IV/CD26 ima ulogu koreceptora u kaskadnim reakcijama prijenosa specifičnih signala kroz membranu (65).
- 4) Kompleksni neuroimunobiokemijski mehanizmi, zasad još nedostatno poznati – rezultati objavljenih istraživanja upućuju na uključenost DPP IV/CD26 u mehanizme stanične proliferacije i diferencijacije (98), programirane stanične smrti odnosno apoptoze te složenim mehanizmima aktivacije limfocita T *in vitro* i *in vivo*, osobito u autoimunskim procesima (98, 99). Utvrđena je uključenost DPP IV/CD26 u neuroimunoendokrine procese, što otvara put novim istraživanjima i terapijskim mogućnostima (100).

Zbog svoje kompleksnosti u djelovanju te izrazite multifunkcionalnosti DPP IV/CD26 i porodica DPP IV proteina vrlo su važno područje u brojnim istraživanjima i temeljnim i kliničko-farmaceutskim. Molekula DPP IV/CD26 prva je membranski vezana peptidaza za koju je utvrđena uloga u procesu prijenosa signala u stanicu. Kako ovaj transmembranski glikoprotein sadržava kratku citoplazmatsku domenu,

iako bez uobičajenih signalnih motiva (65, 77), vjeruje se da su upravo taj kratki transmembranski dio i unutarstanični dio uključeni u kaskadne reakcije prijenosa signala u stanicu. Različite grupe istraživača opisale su uključenost DPP IV/CD26 u regulaciju diferencijacije i rasta limfocita T, kao i njihove aktivacije (82, 101, 102).

Važna komponenta prijenosa signala u stanicu putem molekule CD26 jest i agregacija s adenzin-deaminazom. Adenzin-deaminaza (ADA; EC 3.5.4.4) enzim je uključen u metabolizam purina. Katalizira hidrolitičku deaminaciju adenzina ili 2'-deoksiadenozina u inozin ili 2'-deoksiinozin i amonijak. Kongenitalni defekti ADE uzrokuju tešku kombiniranu imunodeficienciju, karakteriziranu nedostatkom funkcionalnih limfocita T i B (103).

S obzirom na kratku citosolnu domenu molekule CD26, potrebna mu je molekula s kojom se može povezati u cilju efikasne provodnje signala (104). Pokazano je da upravo interakcija DPP IV/CD26 i ADE rezultira kostimulacijskim signalima kod limfocita T. Asocijacija CD26-ADA na površini limfocita T može imati kostimulacijsku ulogu prilikom aktivacije T-staničnog CD3 antigenskog receptora (103). Rezultati provedenih istraživanja pokazali su da prilikom povećane koncentracije ADE dolazi do povećanog lučenja interferona γ (IFN- γ), čimbenika tumorske nekroze α (TNF- α) te interleukina 6 (IL-6), dok nema značajnijeg učinka na interleukine 2 i 10 (IL-2 i IL-10) (104).

Osim u slučaju povezivanja s ADOM Ishii i sur. (74) pokazali su da se signalizacija putem molekule CD26 djelomično odvija i putem asocijacije s tirozinskom fosfatazom odnosno molekulom CD45. Poznato je da je molekula CD45 involvirana u aktivaciju limfocita T te je stoga kompleks CD26-CD45 karika u nizu signalnih kaskada uključenih u imunski odgovor.

Klinička važnost i terapijska primjena

Mogućnost specifične katalitičke razgradnje ciljnih biološki aktivnih supstrata, kao i uključenost u imunomodulacijske procese čine DPP IV/CD26 molekulom od velikog značenja u kliničkom smislu, kao i potencijalnim, a ponegdje već i potvrđenim kandidatom za terapijsku primjenu (105-107).

Dosadašnja su istraživanja upozorila na izmijenjene vrijednosti aktivnosti i izražaja DPP IV/CD26 u različitim bolestima, poput upalnih bolesti crijeva, reumatoidnih bolesti, neuroloških bolesti, karcinoma, metaboličkih bolesti i mnogih drugih, kao što je sažeto

Tablica 2 Popis i karakteristike značajnih regulacijskih peptida, supstrata DPP IV/CD26 u sisavaca (prilagođeno prema ref. 72 i 94)

Supstrat DPP IV/CD26	N- -terminalni kraj lanca	Broj amino- kiselina	Uspješnost katalize ^a	Biološki učinak	Literaturni izvor
Xaa-Pro-peptidi					
Neuropeptid Y, NPY	YP-S...	36	+++	Inaktivacija za Y1- receptor	(147, 148)
Peptid YY, PYY	YP-I...	36	+++	Inaktivacija za Y1- receptor	(148)
Enterostatin	VP-DP-R	5	++	Inaktivacija	(149)
Beta-kazomorfin	YP-F...	7	+++	Inaktivacija	(150)
Interleukin 6 (humani)	VP-PG-E...	184	++	Inaktivacija	(94, 151)
Interleukin 6 (mišji)	FP-TS-Q...	187	++	Inaktivacija	(94, 151)
Interleukin 10 (humani)	SP-G...	160	++	Inaktivacija	(94, 151)
Propeptid tripsinogena	FP-T...	8	+	Nije sasvim poznat, aktivacija?	(150)
Bradikinin	RP-P...	9	Nije sasvim poznata	Nije sasvim poznat	(152)
Supstancija P	RP-KP-Q...	11	++	Nije sasvim poznat	(152, 153)
Peptid koji oslobađa gastrin	VP-LP-A...	27	+	Nije sasvim poznat	(150)
Endomorfin 2	YP-FF-NH ₂	4	++	Inaktivacija	(154)
Tyr-melanostatin	YP-LG-NH ₂	4	++	Inaktivacija	(150)
Aprotinin	RP-D...	58	+	Nije sasvim poznat	(150)
RANTES ^b	SP-Y...	68	+	Inaktivacija za CCR-1 i CCR-3- receptore	(155, 156)
Granulocitni kemotaktični protein 2, GCP-2	GP-V...	73	+	Nije sasvim poznat	(156)
SDF-1- α^c	KP-V...	68	+	Inaktivacija za CXCR4-receptor	(155, 157)
SDF-1- β^c	KP-V...	72	+	Inaktivacija za CXCR4-receptor	(157)
Kemokin deriviran s makrofaga, MDC	GP-YG-A...	69	+	Inaktivacija za CCR4-receptor	(158)
Monocitni kemotaktični protein 1, MCP-1	QP-DA-...	76	Nije sasvim poznata	Nije sasvim poznat	(156)
Monocitni kemotaktični protein 2, MCP-2	QP-DS...	76	+	Inaktivacija	(155)
Monocitni kemotaktični protein 3, MCP-3	QP-VG...	73	Nije sasvim poznata	Nije sasvim poznat	(156)
Eotaksin	GP-A...	74	+	Inaktivacija za CCR3-receptor	(92, 155, 159)
Interferon γ -inducibilni protein 10, IP-10	VP-L...	77	+	Nije sasvim poznat	(94)
Čimbenik rasta 1 sličan inzulinu	GP-E...	70	Nije sasvim poznata	Nije sasvim poznat	(72)

Tablica 2 *Nastavak*

Supstrat DPP IV/CD26	N- -terminalni kraj lanca	Broj amino- kiselina	Uspješnost katalize ^a	Biološki učinak	Literaturni izvor
Prokolipaza	VP-DP-R...	101	+	Nije sasvim poznat, aktivacija?	(150)
Interleukin 2	AP-T...	133	Nije sasvim poznata	Nije sasvim poznat	(94, 150)
Interleukin 1-β	AP-V...	153	Nije sasvim poznata	Nije sasvim poznat	(93)
α ₁ -mikroglobulin	GP-VP-T	168	Nije sasvim poznata	Nije sasvim poznat	(150)
Prolaktin	LP-I...	198	+	Nije sasvim poznat	(94, 150)
Tripsinogen	FP-T	231	+	Nije sasvim poznat, aktivacija?	(150)
Korionski gonadotropin	AP-D... (α-lanac)	243	+	Nije sasvim poznat	(150)
Xaa-Ala-peptidi					
Peptid histidin-metionin	HA-E...	27	++	Inaktivacija	(160)
Čimbenik oslobađanja hormona rasta (1-29)	YA-D...	29	++	Inaktivacija	(161)
Čimbenik oslobađanja hormona rasta (1-44)	YA-D...	44	++	Inaktivacija	(160)
Peptid 1 sličan glukagonu, GLP-1	HA-E...	30	++	Inaktivacija	(160)
Peptid 2 sličan glukagonu, GLP-2	HA-E...	34	++	Inaktivacija	(122)
Gastrični inhibicijski peptid, GIP	YA-E...	42	++	Inaktivacija	(160)
Xaa-Ser-peptidi					
Vazoaktivni intestinalni peptid, VIP	HS-DA-VF...	28	++	Inaktivacija za VPAC1-receptor	(147)
Interleukin 10 (mišji)	MS-RG-Q...	160	++	Inaktivacija	(94, 151)

^a zaključak prema podacima dostupnima u literaturi: +, dobra; ++, vrlo dobra; +++, izvrsna uspješnost katalize

^b RANTES, od engl. regulated on activation normal T-cell expressed and secreted

^c SDF, od engl. stromal cell-derived factor

u tablici 3. (107). Međutim uloga ove molekule u fiziološkim i patološkim međudjelovanjima do danas nije potpuno razjašnjena.

Inhibitori DPP IV/CD26

Većina inhibitora DPP IV/CD26 može se podijeliti u tri glavne skupine: I) reverzibilni analozi (npr. pirolidin, tiazolidin), II) kovalentno vezani analozi, III) reverzibilni nepeptidni heterociklični inhibitori. Istraživanja na ovom području osobito su intenzivna i dosada su dala već vrlo važne rezultate te naposljetku rezultirala kliničkom primjenom inhibitora DPP IV/CD26. Potencijal terapijske primjene inhibitora DPP IV/CD26, kao i njegova klinička važnost zaista su

veliki, a rasvjetljavanje uloge ove molekule u različitim fiziološkim i patološkim procesima presudno i u tom smislu (108).

Područje koje je zasigurno najistraženije u smislu terapijske primjene modulacije aktivnosti DPP IV/CD26 jest dijabetes tipa 2 (109). Naime, određeni inhibitori aktivnosti DPP IV/CD26 poput sitagliptina, saksagliptina i vildagliptina već su u kliničkoj primjeni u terapiji dijabetesa u smislu sprječavanja razgradnje supstrata, ponajviše inkretina, koji sudjeluju u održavanju koncentracije glukoze u krvi stalnom i pomažu u glikemijskoj kontroli (110, 111). Prvotna ideja o inhibiciji aktivnosti DPP IV/CD26 u cilju terapije dijabetesa tipa 2 nastala je iz saznanja o

Tablica 3 Aktivnost serumske DPP IV/CD26 u određenim fiziološkim, odnosno patološkim stanjima

Fiziološko / patološko stanje	aktivnost serumske DPP IV/CD26
Regeneracija jetre (u štakora)	Povišena
Disfunkcija jetre (humana)	Povišena
Karcinom pankreasa i žučnih vodova (humani)	Povišen
Hepatom (humani, u štakora)	Povišena
Encefalitis (mišji)	Povišena
Odbacivanje transplantata (u štakora)	Povišena
Osteoporoza (humana)	Povišena
Upalna bolest crijeva (humana)	Snižena
Depresija (humana)	Snižena
Reumatoidni artritis (humani, u miša)	Snižena
Sistemska lupus erythematosus (humani)	Snižena
Dijabetes mellitus (humani)	Snižena/povišena
Hipertenzija (humana)	Snižena
Trudnoća (humana)	Snižena
Neonatalna vs. odrasla dob (humana)	Snižena
Karcinom usne šupljine (humani)	Snižena
Imunosupresija (u štakora)	Snižena
Mijeloidna leukemija (humana)	Bez promjene
AIDS	Bez promjene
Fibromialgija	Bez promjene

moćnosti katalitičke razgradnje inkretinskog hormona, peptida 1 sličnog glukagonu (GLP-1). GLP-1 je gastrointestinalni inkretinski hormon koji se u cirkulaciju otpušta postprandijalno i potiče lučenje inzulina stimulirano glukozom. Osim toga, ima niz drugih djelovanja u metaboličkom smislu, od odgađanja pražnjenja želuca do inhibicije lučenja glukagona, a sveukupnost njegova djelovanja pridonosi osjećaju sitosti. Nadalje, GLP-1 utječe na β -stanice gušterače potičući njihovu neogenezu i inhibirajući njihovu apoptozu te potiče biosintezu inzulina, što ga čini izvrsnim kandidatom u terapiji dijabetesa, a to je kliničkim istraživanjima i potvrđeno (112). Osim GLP-1, važan inkretinski hormon je i inzulintropni peptid ovisan o glukozu (engl. *glucose-dependent insulinotropic peptide*, GIP) te niz ostalih hormona koji sudjeluju u održavanju homeostaze glukoze. Vjeruje se da sinergistično djelovanje GIP-a i GLP-1 uzrokuje čak 60 % do 70 % postprandijalnog lučenja inzulina (113). Međutim biološki poluživot ovih inkretina vrlo je kratak (svega 1 do 2 minute za GLP-1 te 7 minuta za GIP), jer podliježu katalitičkoj razgradnji zbog enzimskog djelovanja DPP IV/CD26, što dovodi do njihove inaktivacije (112). Stoga je niz istraživanja doveo do razvoja inhibitora DPP IV/CD26, u cilju poboljšanja metaboličke kontrole i očuvanja homeostaze glukoze u oboljelih od dijabetesa tipa 2 (111).

Dosadašnje zapažene nuspojave inhibitora DPP IV/CD26 relativno su dobroćudne, a ponajviše se ističe mogućnost nastajanja hipoglikemije i posljedičnog hipoglikemijskog šoka. Najteža moguća nuspojava terapije inhibitorima DPP IV/CD26 uključuje alergijske reakcije koje mogu biti i kobne. Uporaba inhibitora DPP IV/CD26 međutim nije indicirana u oboljelih od dijabetesa tipa 1 (111).

DPP IV/CD26 I UPALNE BOLESTI CRIJEVA

Dosadašnja istraživanja upućuju na promijenjene vrijednosti aktivnosti i izražaja DPP IV/CD26 kod oboljelih od UBC-a (8, 9, 114). Pokazano je da stupanj sniženja serumske aktivnosti DPP IV/CD26 korelira s jačinom i aktivnošću bolesti i kod CB-a i kod UK te se stoga potencijalno može rabiti u kliničke svrhe kao neinvazivan i ekonomski prihvatljiv marker ovih bolesti. Međutim unatoč različitoj imunskoj pozadini pojedinog entiteta upalnih bolesti crijeva, serumska aktivnost DPP IV/CD26 nije se pokazala dobrim markerom za dijagnostičko razlikovanje CB-a i UK (9). No unatoč brojnim istraživanjima uloga ove molekule u patogenezi UBC-a, kao i drugim kroničnim upalnim bolestima, ostaje nerazjašnjena (115).

Temeljem dosadašnjih saznanja predložena su dva mehanizma putem kojih bi DPP IV/CD26-molekula

mogla biti uključena u patogenezu UBC-a, a uključuju ulogu DPP IV/CD26 u svojstvu serinske proteaze te kao kostimulacijske, odnosno signalne molekule. Kao serinska proteaza DPP IV/CD26 utječe na biološku aktivnost mnogih molekula koje osim što imaju imunomodulacijsku ulogu, pokazano je da sudjeluju i u patogenezi UBC-a, uključujući RANTES, SDF-1 α i TNF- α , IL-6 i IL-10 (116). Modulacijom citokinskog odnosno kemokinskog odgovora pretpostavlja se da DPP IV/CD26 tijekom razvoja ili cijeljenja kolitisa utječe na aktivnost pojedinih imunskih stanica i upalnih medijatora (7). Nadalje, budući da je oštećenje sluznice jedna od glavnih posljedica tijekom razvoja humanog oblika UBC-a, posljednjih godina istražuju se medijatori koji utječu na proces oporavka sluznice. Dosadašnja saznanja upućuju na to da supstrat DPP IV/CD26, peptid 2 sličan glukagonu (GLP-2), ima vrlo važnu ulogu (117). GLP-2 član je porodice peptida sličnih glukagonu, a sastoji se od 33 aminokiseline. Putem enteroendokrinih stanica izlučuje se u lumen crijeva, a upravo je stoga najvažnije područje djelovanja GLP-21-33 probavni sustav, od želuca do debelog crijeva. Pokazano je da sudjeluje u regulaciji mnogih procesa u gastrointestinalnom traktu, uključujući apsorpciju nutrijenata, permeabilnost epitela, staničnu proliferaciju te apoptozu (118, 119). Istraživanja provedena na eksperimentalnim modelima oštećenja intestinalne sluznice u miša i štakora pokazala su da egzogena primjena GLP-21-33 pospješuje rast epitela mukoze i u tankom i u debelom crijevu (120). S druge strane, smanjuje smrtnost stanica epitela, ublažuje oštećenja sluznice, utječe na izražaj citokina, smanjuje bakterijsku septikemiju u upali te ublažuje jačinu oštećenja sluznice crijeva u eksperimentalnome mišjem modelu kolitisa (121). Stoga je citoprotektivni učinak GLP-21-33 temelj potencijalne uporabe ovog peptida u svrhu liječenja oštećenog ili upaljenog mukoznog epitela crijeva kod ljudi. Međutim glavna je zapreka brza inaktivacija GLP-21-33 od strane DPP IV/CD26 kao serinske proteaze u inaktivan oblik GLP-23-33 (122). Inaktivacija GLP-2 ujedno je najveći problem povezan s primjenom GLP-2 u terapijske svrhe te se stoga otvara mogućnost primjene DPP IV/CD26 inhibitora (117).

Sobzirom na to da je DPP IV/CD26 transmembranski glikoprotein koji ima kratak citoplazmatski rep, pretpostavlja se da imunomodulacijski učinak ostvaruje ne samo enzimskom aktivnošću nego i kao kostimulacijska i signalna molekula (64). Pretpostavlja se da kostimulatornu funkciju ostvaruje putem

prethodno spomenutog vezanja ADE ili direktnom interakcijom s citoplazmatskom domenom CD45 (74, 123). DPP IV/CD26 inducira monomerizaciju molekule CD45 i time aktivira prijenos signala preko T-staničnog receptora (64). Aktivacijom molekule CD45 dolazi do fosforilacije na T-staničnom receptoru pridruženih tirozinskih kinaza, p56Lck, Zap-70, c-Cbl, Erk1/2 koje mijenjaju fosforilacijsko stanje ostalih signalnih molekula. Rezultat su prijenos signala, aktivacija T-limfocita i lučenje IL-2 (74). Istraživanja su pokazala da molekula DPP IV/CD26 nije stabilan površinski marker te da aktivacija limfocita T inducira povećan izražaj DPP IV/CD26 na njihovoj površini u početku proliferacije te dostiže svoj maksimum nakon tri dana. Nakon toga izražaj ponovno opada i stanice prestaju proliferirati jedanaestog dana kultivacije. Povećanje izražaja DPP IV/CD26 nakon stimulacije odnosno tijekom aktivacije i proliferacije limfocita izraženije je na stanicama Th1 nego na Th2-stanicama imunskog odgovora.

POKUSNI MODELI UPALNIH BOLESTI CRIJEVA

Različitost i brojnost čimbenika za koje se pretpostavlja da imaju potencijalnu ulogu u etiologiji UBC-a uključujući gensku heterogenost humane populacije te kompleksnost gen-gen i gen-okolišnih interakcija, značajno otežavaju razumijevanje etiopatogenetskih mehanizama koji vode do razvoja UBC-a. Istraživanja etiopatogeneze upalnih bolesti na životinjskim modelima sežu unatrag gotovo pola stoljeća i potrebno je istaknuti da su upravo ova istraživanja pružila prvi ozbiljan pokušaj rješavanja imunodne osnove upalnih bolesti. Tijekom posljednjih deset godina prepoznata je važnost životinjskih modela bolesti, zabilježen je ubrzani razvoj pokusnih modela te je do danas poznato više od 60 modela UBC-a. Zbog sličnosti s humanim oblicima UBC-a pokusni modeli kolitisa omogućavaju proučavanje ranih događaja vezanih uz međudjelovanje različitih upalnih medijatora, utvrđivanje imunskih mehanizama, kao i identifikaciju pojedinih gena (tablica 4). Upalni proces crijeva u pokusnim modelima može se razviti: 1) spontano; 2) potaknuto: nakon primjene kemijskog agensa (npr. intrarektalna aplikacija octene kiseline); 3) prijenosom imunskih stanica iz jednog soja pokusnih životinja u drugi i 4)

genetičkom manipulacijom (selektivne insercije ili delecije određenih gena).

Kao rezultat genetičke manipulacije u određenom broju eksperimentalnih životinja UBC se razvija spontano, a da bismo ih razlikovali od sojeva miševa kod kojih spontane mutacije dovode do razvoja kolitisa, uveden je termin „inducirani mutanti“. Upravo ova kategorija danas uključuje najveći broj eksperimentalnih modela, a dobivena saznanja uvelike su pridonijela razumijevanju mehanizama koji vode razvoju kolitisa. Nadalje, genetičkom manipulacijom potvrđena je pretpostavka da će samo mutacije gena koje čine ključne karike u patogenezi dovesti do spontanog razvoja bolesti. Među navedenim modelima ističu se miševi s deficitom IL-2, IL-10 i TGF- β 1. Sadlack i sur. su 1993. godine prvi pokazali da otprilike 50 % miševa kojima se inaktivira gen za IL-2 uginu između četvrtog i devetog tjedna života, dok se u ostalih između šestog i petnaestog tjedna razvije kronični oblik kolitisa koji zahvaća kolon, od rektuma do cekuma, a patohistološke promjene gotovo su identične s promjenama prisutnim u humanom obliku kolitisa (124). Miševi s deficitom IL-10 obole od kolitisa, ali za razliku od miševa s deficitom IL-2 upalni proces zahvaća osim kolona i duodenum te proksimalni dio jejunuma (125). U oba modela pokazana je aktivacija CD4+ Th1-stanica, uz smanjenje broja T-regulatornih stanica te se pretpostavlja da ove promjene pokreću mehanizme koji vode razvoju bolesti.

Budući da je etiologija UBC-a kompleksna, a mehanizmi razvoja kolitisa u pojedinome modelu različiti, izbor pokusnog modela važan je korak u praćenju i interpretaciji mehanizama čija se uloga ispituje. Široki spektar manifestacija crijevne upale u poznatim životinjskim modelima govori u prilog velikoj različitosti UBC-a u ljudi. Idealni eksperimentalni model UBC-a trebao bi što bolje imitirati humani oblik ulceroznog kolitisa ili Crohnove bolesti, biti jednostavan u izvođenju te imati visoku reproducibilnost (126). Dosadašnja saznanja upućuju na činjenicu da nema dobrog ili lošeg modela UBC-a, da nema modela na kojem se mogu proučavati sve komponente razvoja UBC-a te stoga izbor prikladnog modela za određeno istraživanje ovisi o segmentu bolesti koji se želi istražiti. Upoznavanje životinjskih modela i kompleksa upalnih medijatora služi kao putokaz za razvoj novih hipoteza i terapijskih strategija.

MODEL CROHNOVE BOLESTI U MIŠA

Model kolitisa u miša induciranog trinitrobenzensulfonskom kiselinom (TNBS-kolitis, model Crohnove bolesti u miša, engl. *Crohn-like colitis in mice*) kemijski je induciran pokusni model upalne bolesti crijeva pri čemu dolazi do oštećenja epitelnih stanica, ulceracija i transmuralne upale koja

Tablica 4 Odabrani pokusni modeli kolitisa

Pokusni model kolitisa	Lokalizacija	Upala	Klinička sličnost
Spontani			
C3H/HeJ/Bir miševi	cekum, kolon	akutna, kronična	CB, UK
SAMP1/Yit miševi	ileum	akutna, kronična	CB
Kemijski inducirani			
Octena kiselina	kolon, rektum	akutna	UK
TNBS/etanol	kolon	akutna, kronična	CB
DSS	kolon	akutna, kronična	UK
Ciklosporin A	kolon	akutna, kronična	CB, UK
Oksazonol	kolon	akutna, kronična	UK
Prijenos imunskih stanica			
prijenos CD45Rb ^{high}	kolon > ileum	kronični > akutni	CB
Transgenični miševi			
IL-2 - deficitantni miševi	kolon	akutna, kronična	UK
IL-10 - deficitantni miševi	tanko crijevo, kolon	kronična	UK
$\alpha\beta$ TCR - deficitantni miševi	kolon	akutna, kronična	UK

CB, Crohnova bolest; UK, ulcerozni kolitis; TNBS, trinitrobenzensulfonska kiselina; DSS, natrijev dekstran sulfat; IL, interleukin; TCR, T - stanični receptor; TGF- β , transformirajući faktor rasta β .

je uglavnom lokalizirana u distalnom dijelu kolona. Rektalna primjena otopine 2,4,6-trinitrobenzensulfonske kiseline (TNBS, $C_6H_3N_3O_9S$, Mr=293.17) u etanolu uzrokuje primarno Th1-oblik imunskog odgovora, koji je specifičan za CB u ljudi (7, 127). Zbog velike sličnosti kliničkih, histoloških i imunskih karakteristika kod ljudi te reproducibilnosti u životinja, pogodan je pokusni model za proučavanje ranih događaja vezanih uz nastanak, razvoj i cijeljenje CB-a (127, 128).

Mehanizam djelovanja

Mehanizam toksičnog djelovanja etanolne otopine TNBS-a na crijevnu mukozu nije u cijelosti razjašnjen. Međutim poznato je da etanol u ovoj formulaciji pri rektalnoj primjeni djeluje prije svega kao agens koji razara površinu mukoze crijeva te omogućava prodiranje TNBS-a u dublje slojeve stijenki crijeva. TNBS tada lokalno djeluje kao hapten, vežući se na endogene proteine mukoze kolona, što dovodi do nastanka proteina modificiranih TNBS-om u intersticiju crijeva te na taj način potiče lokalni imunski odgovor putem aktivacije limfocita T i makrofaga (127, 129). Pritom dolazi i do razgradnje TNBS-a te nastanka veće količine slobodnih kisikovih radikala, što potiče kaskadu citotoksičnih reakcija, dodatno pridonoseći razvoju upalnih procesa koji naposljetku često završavaju staničnom smrću (129). Nadalje, pokazano je da interakcija $-NO_2$ skupine iz TNBS-a sa specifičnim flavoproteinima, uz prisutnost molekularnog kisika, dovodi do nastanka superoksidnog aniona te vodikova peroksida. Njihovom reakcijom s određenim faktorima, poput iona željeza, dolazi do stvaranja snažnih slobodnih radikala koji mogu izravno oštetiti makromolekule od vitalne važnosti za stanicu, poput DNA, proteina i lipida (130).

Uspostava TNBS-modela kolitisa

U svojim smo istraživanjima uspostavili TNBS-kolitis u miša s deficitom CD26 (CD26^{-/-}) i divljem tipu miša (C57BL/6), primjenom klizme koja sadržava 5 %-tni TNBS otopljen u 50 %-tnom etanolu u jednakim omjerima. Ovu smo koncentraciju odredili prethodnim pilot-pokusima kao optimalnu, u smislu najvećeg poboljšavanja pokusnih životinja uz najmanju stopu smrtnosti. Klizma je uvedena pokusnoj životinji 4 cm proksimalno od analnog otvora s pomoću polipropilenskog katetera, u općoj anesteziji. Pokusne životinje iz kontrolnih skupina bile su podvrgnute identičnoj proceduri, ali im je rektalno uvedena

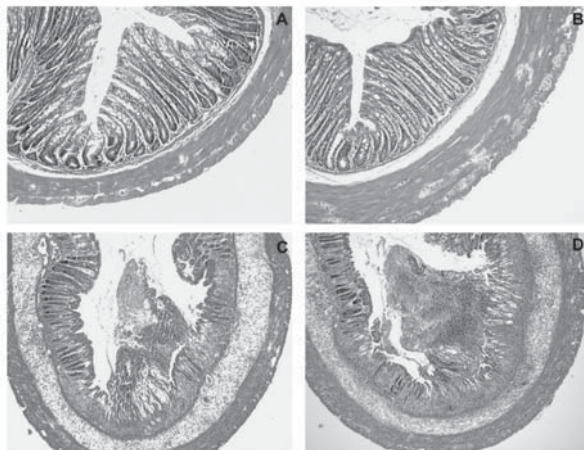
otopina etanola odnosno fiziološka otopina. Prilikom izvođenja pokusa poštivana su sva načela i propisi rada s laboratorijskim životinjama. Etička komisija Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci prethodno je odobrila sve planirane postupke s laboratorijskim životinjama.

Kolitis se kod pokusnih životinja obaju sojeva manifestirao lošim kliničkim stanjem, gubitkom tjelesne mase, promjenom u konzistenciji stolice u kojoj se mogla vidjeti krv te eventualno prisutnost rektalnog krvarenja. Simptomi su bili najintenzivniji drugog dana od aplikacije otopine TNBS-a u etanolu. Makroskopske promjene također su bile najizraženije drugog dana, a manifestirale su se kao skraćenje i zadebljanje kolona te lokalizirana, žarišna upala završnog dijela debelog crijeva.

Patohistološke karakteristike

Patohistološka analiza potvrdila je postojanje transmuralne upale vrlo slične onoj u humanoj Crohnovoj bolesti. Histomorfometrijska analiza preparata debelog crijeva potvrdila je smanjenje broja kripta, njihovo proširenje te smanjenje dubine u skupinama životinja s induciranim kolitisom. Drugi dan od aplikacije etanolne otopine TNBS-a akutna je faza kolitisa i karakterizirana je skraćanjem i zadebljanjem kolona te lokaliziranim, žarišnim upalnim promjenama ponajviše u završnom dijelu debelog crijeva. Upalne promjene diskontinuiranog su karaktera, s područjima zdravog tkiva između područja zahvaćenih upalom. Navedene promjene zapažene su u oba soja pokusnih životinja kojima je induciran kolitis. Životinje u kontrolnim skupinama tretirane fiziološkom otopinom nisu pokazivale upalne promjene stijenke debelog crijeva. Kod kontrolne skupine životinja tretiranih otopinom etanola u nekim se preparatima drugog dana pokusa moglo uočiti razvijanje upalnog procesa, ali je uvijek bila zahvaćena samo sluznica uz infiltrate granulocita u lamini proprijii i pojavu edema, no bez oštećenja površnog epitela, dok kod životinja iz kontrolne skupine tretiranih fiziološkom otopinom nisu zamijećene patohistološke promjene (slika 2A i B).

Pregledom preparata kolona CD26^{-/-} i C57BL/6-miševa u skupinama koje su bile tretirane otopinom TNBS-a u etanolu utvrđene su različite patohistološke promjene. Upalne promjene bile su najintenzivnije drugog dana od primjene otopine TNBS-a u etanolu te je taj dan karakteriziran kao akutna upala, što je u skladu s opažanjima u literaturi (90, 127, 131). Intraluminalna aplikacija etanolne otopine TNBS-a



Slika 2 Patohistološke promjene kolona u CD26-deficijentnom (A, C) i C57BL/6 (B, D) soju miša. A, B: zdrava sluznica kolona dva dana nakon primjene fiziološke otopine. C, D: upalne promjene dva dana nakon primjene etanolne otopine TNBS-a (7). Parafinski preparati pripremljeni su prema standardnom protokolu i obojeni hematoksilin-eozinom (7). Povećanje 10x (A, B), 4x (C, D)

kod životinja obaju sojeva izazvala je nastajanje istog tipa promjena u stijenci kolona (slika 2C i D). Može se uočiti dijelom nekrotična sluznica, obilno prožeta neutrofilnim granulocitima, kao i raspadnutim leukocitima, uz žarišna krvarenja i nastanak nekrotičnog detritusa. Promjene ne zahvaćaju sluznicu cijelog lumena crijeva, već na nekim mjestima postoji održani epitel uz normalni izgled kripta. U području podsluznice postoji izražen edem uz granulocitnu infiltraciju tkiva. Mogu se uočiti brojni eritrociti te nakupljanje fibrina. Infiltrati upalnih stanica nalaze se i u području obaju slojeva mišićnice.

Na preparatima kolona obaju sojeva životinja u kasnijim danima pokusa vidljivo je vrlo brzo cijeljenje sluznice uz postepenu obnovu kripta i površnog epitela, smanjenje i nestanak upalnog infiltrata te gubitak edema. Stanice koje nalazimo tijekom cijeljenja u lamini proprijji mononuklearnog su tipa. Čest su nalaz nakupine limfatičnog tkiva i u podsluznici i u lamini proprijji.

MODEL ULCEROZNOG KOLITISA U MIŠA

Model kolitisa induciran primjenom natrijeva dekstran sulfata (DSS) *per os* relativno je dugo poznati model koji se zbog niza prednosti često rabi za proučavanje patogeneze UK. Prednosti ovog modela očituju se u jednostavnosti induciranja kolitisa i

pouzdanosti s obzirom na vrijeme pojavljivanja, u intenzitetu kliničkih simptoma i patohistoloških promjena te njihove sličnosti s promjenama u humanom obliku UK. Kombiniranjem različitih koncentracija i dužine primjene DSS-otopine može se izazvati akutni ili kronični oblik kolitisa, a dugotrajna primjena niskih doza dovodi do razvoja malignih bolesti kao što su adenom, adenokarcinom ili papilom. Slijed događaja u razvoju karcinoma identičan je sa slijedom humanog oblika karcinoma kolona, a isto kao i kod ljudi, na pokusnome modelu pokazan je pozitivan odgovor na standardnu terapiju UK kao što su metronidazol (132), 5-aminosalicilati (133), ciklosporin (134) i anti-TNF-terapija (135).

Akutni kolitis induciran DSS-om prvi je put uspostavljen 1985. godine na štakoru (136), a nakon toga je prilagođen i primijenjen i u miša (137), dok je model kroničnog kolitisa prvi put uspostavljen 1992. godine u hrčka (138). Zbog niza prednosti danas je DSS-model jedan od najčešćih eksperimentalnih modela koji se rabe za izazivanje kolitisa u miša, hrčka, štakora ili gvinejskih prašćića. Pokazano je da DSS-kolitis može biti izazvan i u miševima s deficitom Rag-2 te se pretpostavlja da DSS dovodi do oštećenja integriteta sluznice crijeva i gubitka njezine osnovne funkcije, a imunosna reakcija sekundarna je pojava. U akutnoj fazi DSS-kolitisa dolazi do aktivacije Th1-imunosnog odgovora, ali kasnije, u kroničnoj fazi upale, pojavljuje se kombinirani Th1/Th 2-odgovor. U oba slučaja, kao odgovor na oštećenje, dolazi do lučenja velikih količina TNF- α i IL-6 (139).

Dekstran je složeni polimer glukoze koji sintetiziraju bakterije, najčešće *Leuconostoc* spp i *Streptococcus* spp iz saharoze (140). Građen je od osnovnoga, glavnog lanca i pobočnih grana, a molekulska mu se masa kreće od 5000 pa sve do 1400000 Da. DSS je derivat dekstrana koji nastaje kao rezultat esterifikacije s klorsulfonskom kiselinom, a sumpor čini otprilike 17 % molekule, što odgovara omjeru dviju sulfatnih skupina na jednu glukoznu jedinicu molekule dekstrana te time raspon molekulske mase dekstrana utječe na konačnu molekulsku masu DSS-a. Kitajima i sur. (141) pokazali su varijacije u intenzitetu i lokalizaciji kolitisa nakon primjene 5 %-tne otopine DSS-a različitih molekulskih masa (5000, 40000 i 500000 Da) tijekom sedam dana. Utvrđeno je da je intenzitet kolitisa bio najveći nakon primjene DSS-a molekulske mase 40000 Da, a da se kolitis nije mogao izazvati nakon primjene DSS-a molekulske mase 500000 Da. Nadalje, ispitivane su karakteristike kolitisa izazvane 4 %-tnom otopinom DSS-a

molekulske mase 9000 - 20000 Da u odnosu prema 36000 - 50000 Da u Sprague-Dawley štakora te su također utvrdili razlike u intenzitetu upalnog procesa. Temeljem navedenoga zaključeno je da je molekulska masa DSS-a važan čimbenik koji utječe na razvoj, lokalizaciju, proširenost i intenzitet upalnog procesa (133).

Budući da je pokazano da različiti mišji sojevi imaju različitu osjetljivost na DSS, odnosno razvijanje bolesti, pretpostavlja se da su genetski i imunosni čimbenici u razvoju kolitisa izrazito kompleksni te ih treba istražiti, a DSS-model, zbog niza prednosti, jedan je od životinjskih modela koji pruža dobru mogućnost za takva istraživanja.

Mehanizam djelovanja

Precizan mehanizam kojim DSS dovodi do razvoja kolitisa nije potpuno razjašnjen. Temeljem dosadašnjih saznanja predloženo je nekoliko mehanizama prema kojima DSS primarno uzrokuje promjene na razini sluznice crijeva, a imunosna je reakcija sekundarni proces (137). Prvi predloženi mehanizam sastoji se u pretpostavci da DSS utječe na propusnost sluznice, a u prilog tomu govori i činjenica da je prva promjena koja nastaje kao rezultat primjene DSS-a gubitak bazalnih kripti te njihovo razdvajanje od muskularis mukoze. Kitajima i sur. (141) pokazali su na mišjem modelu DSS-kolitisa da je povećana mukozna propusnost prvi događaj nakon kojega slijedi nakupljanje upalnih stanica, odnosno razvoj upalnog infiltrata. Ova su saznanja Venkatraman i sur. (142) potvrdili i na štakorskome modelu kolitisa. Poritz i sur. (143) otišli su korak dalje i pokazali 50 %-tno sniženje ekspresije proteina čvrstih veza (engl. *tight junction protein 1*), već nakon jednodnevne primjene DSS-a, a razvojem kolitisa, odnosno petog dana eksperimentalnog perioda, primjenom Western blot tehnike, ovaj se protein više nije mogao detektirati, što dodatno upućuje na ulogu povećane propusnosti sluznice u patogenezi DSS-kolitisa.

Drugi predloženi mehanizam djelovanja DSS-a sastoji se u njegovoj direktnoj toksičnosti za sluznicu crijeva, ovisnoj o koncentraciji, što vodi k promjeni razine integrin $\alpha 4$ i M290 podjedinica na epitelnim stanicama remeteći njihovu interakciju s $\gamma \delta$ -intraepitelnim limfocitima (144), a za koje se pretpostavlja da imaju zaštitnu ulogu u borbi protiv različitih čimbenika koji mogu oštetiti sluznicu crijeva, uključujući i DSS (144, 145).

Navedena istraživanja potvrđuju pretpostavku da su razaranje sluznice kao fizičke zapreke i posljedično

povećanje propusnosti nužni koraci koji prethode infiltraciji upalnih stanica u dublje slojeve sluznice crijeva te da primarno oštećenje nastaje na razini epitelnih stanica nakon čega slijedi aktivacija imunosnog odgovora i razvoja kolitisa posredovanog DSS-om (146). Uloga bakterijske flore u razvoju DSS-kolitisa također je nejasna budući da je pokazano da primjena metronidazola i ciprofloksacina ublažava simptome akutnog, ali ne i kroničnog DSS-kolitisa (132).

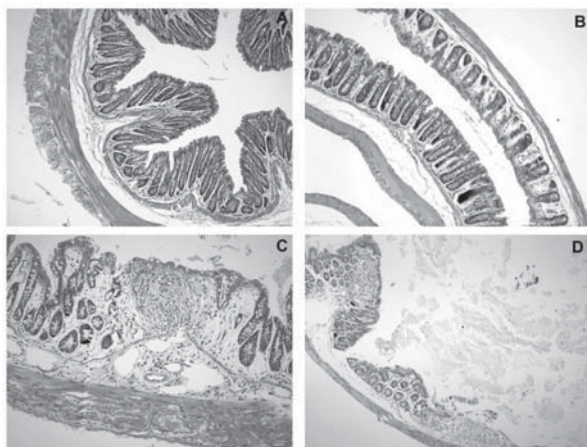
Uspostava DSS-modela kolitisa

U našim istraživanjima model induciranog kolitisa izazvan je u divljem tipu miša (C57BL/6) i u CD26-/- miševima, natrijevim dekstran-sulfatom (DSS; MW 50 kDa; MP Biomedicals, SAD), otopljenim u vodi za piće u koncentraciji od 3 % (131). Koncentracija otopine DSS-a odabrana je na osnovi prethodnih studija (141) te potvrđena pilot-pokusom. Otopinu DSS-a miševi su pili *ad libitum* sedam dana, a svježa se otopina pripremala svakoga drugog dana. Kontrolnu skupinu činili su miševi (C57BL/6 i CD26-/-) koji su tijekom sedam dana konzumirali pitku vodu te su žrtvovani u istim vremenskim razmacima kao i miševi kod kojih je izazvan kolitis.

Uspostava, razvoj i cijeljenje kolitisa u miševa tretiranih DSS-om u odnosu prema kontrolnoj skupini pratili su se na temelju više različitih parametara kao indirektnih markera upale koji uključuju: dnevno mjerenje tjelesne mase, pregled konzistencije stolice i pojave rektalnog krvarenja. Nakon žrtvovanja izolirano je debelo crijevo te je izmjerena njegova dužina i masa, a dobiveni podaci bili su parametri kojima su se pratile lokalne promjene, odnosno promjene nastale zbog razvoja kolitisa odnosno upale.

Patohistološke karakteristike

Patohistološkom analizom sluznice debelog crijeva utvrđeno je da primjena 3 %-tne otopine DSS-a tijekom sedam dana dovodi do razvoja epitelnog oštećenja, ulceracija, promjene broja kripti te upale u obje ispitivane skupine miševa (slika 3C i D), koje nisu vidljive u kontrolnim skupinama (slika 3A i B). Kao i kod humanog oblika kolitisa upalni je proces ograničen na kolon, s vidljivim područjima krvarenja i ulceracijama. Upala uglavnom zahvaća mukozu i u pojedinim se dijelovima širi u dublje slojeve, submukozu i laminu muskularis mukoze. Površinske ulceracije, edem, distorzija kripti i apscesi udruženi



Slika 3 Patohistološke promjene kolona u CD26-deficijentnom (A, C) i C57BL/6 (B, D) soju miša. A, B: zdrava sluznica kolona. C, D: upalne promjene sedam dana nakon primjene otopine DSS-a. Parafinski preparati pripremljeni su prema standardnom protokolu i obojeni hematoksilin-eozinom (7). Povećanje 4x (A), 20x (B, C, D)

s infiltracijom mukoze i submukoze upalnim stanicama glavne su karakteristike prisutnog upalnog procesa. U ranim fazama razvoja kolitisa, odnosno trećeg dana nakon početka davanja otopine DSS-a počinju se javljati prve promjene u lamini propriji sluznice debelog crijeva. Pojavljuju se upalne stanice, uz edem što dovodi do smanjenja broja kripta na milimetar sluznice crijeva. Tijekom prvog tjedna upala zahvaća mukoza i submukoza, a često je uključena i tunica muscularis. Sedmi dan pokusa uočava se akutni upalni odgovor i površne erozije sluznice kolona s ekfolijacijom epitela te pojavom edema, hemoragije i infiltracije polimorfonuklearnim leukocitima u području lamine proprije. Žlijezde su plitke i široko otvorene. Napredovanjem bolesti javljaju se područja potpuno bez kripta s jakim upalnim infiltratom. Na tim je mjestima uočen nedostatak površnih epitelnih stanica. Upala je okarakterizirana transmuralnom infiltracijom s fokalnom nekrozom, infiltracijom neutrofilima, opsežnom fibrozom i zadebljanjem stijenke. Jako izraženi limfni čvorići i difuzni infiltrati limfocita nalaze se u lamini propriji, ali i u podsluznici uz oštećenje lamine muskularis mukoze.

Patohistološke promjene smanjuju se za vrijeme cijeljenja kolitisa: tijekom trećeg tjedna histološke promjene u kolonu pokazuju povlačenje akutnog upalnog odgovora i prisutnost određene količine kroničnog upalnog infiltrata u mukozi i submukozi. Javlja se i fibrozno cijeljenje oštećenja uz postupno povećanje broja kripta na kontrolnu veličinu. U

kroničnom upalnom infiltratu nalaze se limfociti, plazma-stanice, a u nekim slučajevima nalazimo i male granulome u lamini propriji.

ZAKLJUČAK

UBC su važan javnozdravstveni problem današnjice, a unatoč brojnim pretkliničkim i kliničkim istraživanjima etiopatogeneza ovih bolesti ostaje nedovoljno poznata, time i terapija nedovoljno učinkovita. Dosadašnja su istraživanja upozorila na potencijalno važnu ulogu DPP IV/CD26 i porodice proteina sličnih DPP IV u mehanizmima nastanka upale u probavnom sustavu, kao i mogućnost manipulacije aktivnosti ovih molekula u terapijske svrhe. Radi dobivanja novih saznanja na ovom području, ključnu ulogu imaju životinjski modeli UBC-a, koji nam omogućuju istraživanja specifičnih karakteristika pojedinih aspekata ovih kroničnih bolesti. Daljnja istraživanja na ovom području trebala bi dovesti do razjašnjavanja mehanizama nastanka UBC-a, a time i do unaprjeđenja terapijskih mogućnosti, što bi u konačnici dovelo do znatnog poboljšanja kvalitete života oboljelih.

Zahvala

Rad je napisan u okviru znanstvenoistraživačkog projekta broj 062-0061245-0213, pod nazivom „Uloga dipeptidil-peptidaze IV (CD26/DPP IV) u kroničnim bolestima“, koji podupire Ministarstvo znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske. Zahvaljujemo prof. dr. sc. Stipanu Jonjiću, predstojniku Zavoda za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci na suradnji i mogućnosti dovršenja dijela istraživanja u prostorijama Zavoda za histologiju i embriologiju. Hvala prof. dr. sc. Ester Pernjak Pugel na patohistološkim analizama preparata tkiva, kao i na korisnim savjetima prilikom njihove interpretacije.

LITERATURA

1. Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12(Suppl 1):S3-9.
2. Repiso A, Alcantara M, Munoz-Rosas C, Rodriguez-Merlo R, Perez-Gruesso MJ, Carrobbles JM, Carrobbles JM, Martinez-Potenciano JL. Extraintestinal manifestations of Crohn's disease: prevalence and related factors. *Rev Esp Enferm Dig* 2006;98:510-7.

3. Sands BE, Grabert S. Epidemiology of inflammatory bowel disease and overview of pathogenesis. *Med Health R I* 2009;92:73-7.
4. Hibi T. Molecular biological studies of the pathogenesis in inflammatory bowel disease. *Intern Med* 2003;42:285-7.
5. Geboes K, Colombel JF, Greenstein A, Jewell DP, Sandborn WJ, Vatn MH, Warren B, Riddell RH; Pathology Task Force of the International Organization of Inflammatory Bowel Diseases. Indeterminate colitis: a review of the concept - what's in a name? *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:850-7.
6. Fatahzadeh M. Inflammatory bowel disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:e1-10.
7. Baticic L, Detel D, Kucic N, Buljevic S, Pugel EP, Varljen J. Neuroimmunomodulative properties of dipeptidyl peptidase IV/CD26 in a TNBS-induced model of colitis in mice. *J Cell Biochem* 2011;112:3322-33.
8. Hildebrandt M, Rose M, Rüter J, Salama A, Mönnikes H, Klapp BF. Dipeptidyl peptidase IV (DPIV, CD26) in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:1067-72.
9. Varljen J, Mijandrušić Sinčić B, Batičić L, Varljen N, Detel D, Lekić A. Clinical relevance of the serum dipeptidyl peptidase IV (DPP IV/CD26) activity in adult patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Croat Chem Acta* 2005;78:427-32.
10. Loftus EV, Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004;126:1504-17.
11. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007;369:1627-40.
12. Niv Y, Abuksis G, Fraser GM. Epidemiology of ulcerative colitis in Israel: a survey of Israeli kibbutz settlements. *Am J Gastroenterol* 2000;95:693-8.
13. Baumgart DC, Bernstein CN, Abbas Z, Colombel JF, Day AS, D'Haens G, Dotan I, Goh KL, Hibi T, Kozarek RA, Quigley EM, Reinisch W, Sands BE, Sollano JD, Steinhart AH, Steinwurz F, Vatn MH, Yamamoto-Furusho JK. IBD Around the world: Comparing the epidemiology, diagnosis, and treatment: Proceedings of the World Digestive Health Day 2010 - Inflammatory bowel disease task force meeting. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:639-44.
14. Sands BE. Inflammatory bowel disease: past, present, and future. *J Gastroenterol* 2007;42:16-25.
15. Sincić BM, Vucelić B, Persić M, Brncić N, Erzen DJ, Radaković B, Mićović V, Stimac D. Incidence of inflammatory bowel disease in Primorsko-goranska County, Croatia, 2000-2004: A prospective population-based study. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:437-44.
16. Molodecky NA, Kaplan GG. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol* 2010;6:339-46.
17. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, van Blakenstein M. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* 1996;39:690-7.
18. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, Satsangi J. The genetics of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2820-31.
19. Satsangi J, Morecroft J, Shah NB, Nimmo E. Genetics of inflammatory bowel disease: scientific and clinical implications. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17:3-18.
20. Abreu MT. The pathogenesis of inflammatory bowel disease: translational implications for clinicians. *Curr Gastroenterol Rep* 2002;4:481-9.
21. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:79-94.
22. Noble C, Nimmo E, Gaya D, Russell RK, Satsangi J. Novel susceptibility genes in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2006;12:1991-9.
23. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003;3:521-33.
24. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Puig LP, Rousseau GC, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:599-603.
25. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar J-P, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nuñez G, Cho JH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:603-6.
26. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, Ho GT, Arnott ID, Wilson DC, Satsangi J. Genetics of the innate immune response in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:338-55.
27. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002;347:417-29.
28. Colletti T. IBD - recognition, diagnosis, therapeutics. *JAAPA* 2004;17:16-18, 21-14.
29. Farrell RJ, LaMont JT. Microbial factors in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2002;31:41-62.
30. MacDonald TT. Gastrointestinal inflammation. Inflammatory bowel disease in knockout mice. *Curr Biol* 1994;4:261-3.
31. Rath HC, Schultz M, Freitag R, Dieleman LA, Li F, Linde HJ, Schölmerich J, Balfour Sartor R. Different subsets of enteric bacteria induce and perpetuate experimental colitis in rats and mice. *Infect Immun* 2001;69:2277-85.
32. Cucchiara S, Iebba V, Conte MP, Schippa S. The microbiota in inflammatory bowel disease in different age groups. *Dig Dis* 2009;27:252-8.
33. Klement E, Lysy J, Hoshen M, Avitan M, Goldin E, Israeli E. Childhood hygiene is associated with the risk for inflammatory bowel disease: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1775-82.

34. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Herber A. Mucosal flora in Crohn's disease and ulcerative colitis - an overview. *J Physiol Pharmacol* 2009;60(Suppl 6):61-71.
35. Sanz Y, De Palma G. Gut microbiota and probiotics in modulation of epithelium and gut-associated lymphoid tissue function. *Int Rev Immunol* 2009;28:397-413.
36. Shah SA, Feller ER. Inflammatory bowel disease. *Med Health R I* 2009;92:72.
37. Sonnenberg A. Occupational mortality of inflammatory bowel disease. *Digestion* 1990;46:10-8.
38. Kaplan GG, Hubbard J, Korzenik J, Sands BE, Panaccione R, Ghosh S, Wheeler AJ, Villeneuve PJ. The inflammatory bowel diseases and ambient air pollution: a novel association. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2412-9.
39. Henderson P, van Limbergen JE, Schwarze J, Wilson DC. Function of the intestinal epithelium and its dysregulation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:382-95.
40. Yamamoto T, Nakahigashi M, Saniabadi AR. Review article: diet and inflammatory bowel disease - epidemiology and treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:99-112.
41. Persson PG, Ahlbom A, Hellers G. Diet and inflammatory bowel disease: a case-control study. *Epidemiology* 1992;3:47-52.
42. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev* 2010;68:280-9.
43. Cosnes J. What is the link between the use of tobacco and IBD? *Inflamm Bowel Dis* 2008;14(Suppl 2):S14-15.
44. van der Heide F, Dijkstra A, Weersma RK, Albersnagel FA, van der Logt EM, Faber KN, Sluiter WJ, Kleibeuker JH, Dijkstra G. Effects of active and passive smoking on disease course of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:1199-207.
45. Carbonnel F, Jantchou P, Monnet E, Cosnes J. Environmental risk factors in Crohn's disease and ulcerative colitis: an update. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33(Suppl 3):S145-57.
46. Cosnes J. Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004;18:481-96.
47. Lakatos PL. Environmental factors affecting inflammatory bowel disease: have we made progress? *Dig Dis* 2009;27:215-25.
48. Peters CA, Cesaretti JA, Stone NN, Stock RG. Low-dose rate prostate brachytherapy is well tolerated in patients with a history of inflammatory bowel disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006;66:424-9.
49. Broom OJ, Widjaya B, Troelsen J, Olsen J, Nielsen OH. Mitogen activated protein kinases: a role in inflammatory bowel disease? *Clin Exp Immunol* 2009;158:272-80.
50. Garg P, Vijay-Kumar M, Wang L, Gewirtz AT, Merlin D, Sitaraman SV. Matrix metalloproteinase-9-mediated tissue injury overrides the protective effect of matrix metalloproteinase-2 during colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;296:G175-84.
51. Mentlein R. Cell-surface peptidases. *Int Rev Cytol* 2004;235:165-213.
52. Matteucci E, Giampietro O. Dipeptidyl peptidase-4 (CD26): knowing the function before inhibiting the enzyme. *Curr Med Chem* 2009;16:2943-51.
53. Van der Veken P, Haemers A, Augustyns K. Prolyl peptidases related to dipeptidyl peptidase IV: potential of specific inhibitors in drug discovery. *Curr Topics Med Chem* 2007;7:621-35.
54. Sedo A, Malik R. Dipeptidyl peptidase IV-like molecules: homologous proteins or homologous activities? *Biochim Biophys Acta* 2001;1550:107-16.
55. Cordero OJ, Salgado FJ, Nogueira M. On the origin of serum CD26 and its altered concentration in cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:1723-47.
56. Levy MT, McCaughan GW, Abbott CA, Park JE, Cunningham AM, Müller E, Rettig WJ, Gorrell MD. Fibroblast activation protein: a cell surface dipeptidyl peptidase and gelatinase expressed by stellate cells at the tissue remodelling interface in human cirrhosis. *Hepatology* 1999;29:1768-78.
57. Henry LR, Lee HO, Lee JS, Klein-Szanto A, Watts P, Ross EA, Chen WT, Cheng JD. Clinical implications of fibroblast activation protein in patients with colon cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:1736-41.
58. Rettig WJ, Garin-Chesa P, Healey JH, Su SL, Ozer HL, Schwab M, Albino AP, Old LJ. Regulation and heteromeric structure of the fibroblast activation protein in normal and transformed cells of mesenchymal and neuroectodermal origin. *Cancer Res* 1993;53:3327-35.
59. Niedermeyer J, Kriz M, Hilberg F, Garin-Chesa P, Bamberger U, Lenter MC, Park J, Viertel B, Püschner H, Mauz M, Rettig WJ, Schnapp A. Targeted disruption of mouse fibroblast activation protein. *Mol Cell Biol* 2000;20:1089-94.
60. Abbott CA, Yu DM, Woollatt E, Sutherland GR, McCaughan GW, Gorrell MD. Cloning, expression and chromosomal localization of a novel human dipeptidyl peptidase (DPP) IV homolog, DPP8. *Eur J Biochem* 2000;267:6140-50.
61. Dubois V, Van Ginneken C, De Cock H, Lambeir AM, Van der Veken P, Augustyns K, Chen X, Scharpé S, De Meester I. Enzyme activity and immunohistochemical localization of dipeptidyl peptidase 8 and 9 in male reproductive tissues. *J Histochem Cytochem* 2009;57:531-41.
62. Chen T, Smyth D, Abbott CA. Cd26. *J Biol Regul Homeost Agents* 2004;18:47-54.
63. Gorrell MD. Dipeptidyl peptidase IV and related enzymes in cell biology and liver disorders. *Clin Sci* 2005;108:277-92.
64. Boonacker E, Van Noorden CJ. The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV. *Eur J Cell Biol* 2003;82:53-73.
65. Liu Z, Christensson M, Forslöw A, De Meester I, Sundqvist KG. A CD26-controlled cell surface cascade for regulation of T cell motility and chemokine signals. *J Immunol* 2009;183:3616-24.
66. Vanderheyden M, Bartunek J, Goethals M, Verstreken S, Lambeir AM, De Meester I, Scharpé S. Dipeptidyl-peptidase

- IV and B-type natriuretic peptide. From bench to bedside. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:248-52.
67. Hopsu-Havu VK, Glenner GG. A new dipeptide naphthylamidase hydrolyzing glycyl-prolyl-beta-naphthylamide. *Histochemie* 1966;7:197-201.
 68. Morrison ME, Vijayasaradhi S, Engelstein D, Albino AP, Houghton AN. A marker for neoplastic progression of human melanocytes is a cell surface ectopeptidase. *J Exp Med* 1993;177:1135-43.
 69. Lojda Z. Studies on glycyl-proline naphthylamidase. I. Lymphocytes. *Histochemistry* 1977;54:299-309.
 70. Kullertz G, Fischer G, Barth A. [Catalytic mechanism of dipeptidyl-peptidase IV, in German]. *Acta Biol Med Ger* 1978;37:559-67.
 71. Hanski C, Huhle T, Reutter W. Involvement of plasma membrane dipeptidyl peptidase IV in fibronectin-mediated adhesion of cells on collagen. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1985;366:1169-76.
 72. Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26): role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept* 1999;85:9-24.
 73. Darmoul D, Lacasa M, Baricault L, Marguet D, Sapin C, Trotot P, Barbat A. Dipeptidyl peptidase IV (CD 26) gene expression in enterocyte-like colon cancer cell lines HT-29 and Caco-2. Cloning of the complete human coding sequence and changes of dipeptidyl peptidase IV mRNA levels during cell differentiation. *J Biol Chem* 1992;267:4824-33.
 74. Ishii T, Ohnuma K, Murakami A, Takasawa N, Kobayashi S, Dang NH, Schlossman SF, Morimoto C. CD26-mediated signaling for T cell activation occurs in lipid rafts through its association with CD45RO. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:12138-43.
 75. Rosenblum JS, Kozarich JW. Prolyl peptidases: a serine protease subfamily with high potential for drug discovery. *Curr Opin Chem Biol* 2003;7:496-504.
 76. Shipp MA, Look AT. Hematopoietic differentiation antigens that are membrane-associated enzymes: cutting is the key! *Blood* 1993;82:1052-70.
 77. Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW. CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand J Immunol* 2001;54:249-64.
 78. Fleischer B. CD26: a surface protease involved in T-cell activation. *Immunol Today* 1994;15:180-4.
 79. Muñoz E, Blazquez MV, Madueño JA, Rubio G, Peña J. CD26 induces T-cell proliferation by tyrosine protein phosphorylation. *Immunology* 1992;77:43-50.
 80. Bednarczyk JL, Carroll SM, Marin C, McIntyre BW. Triggering of the proteinase dipeptidyl peptidase IV (CD26) amplifies human T lymphocyte proliferation. *J Cell Biochem* 1991;46:206-18.
 81. Bühling F, Junker U, Reinhold D, Neubert K, Jäger L, Ansorge S. Functional role of CD26 on human B lymphocytes. *Immunol Lett* 1995;45:47-51.
 82. Kahne T, Lendeckel U, Wrenger S, Neubert K, Ansorge S, Reinhold D. Dipeptidyl peptidase IV: a cell surface peptidase involved in regulating T cell growth (review). *Int J Mol Med* 1999;4:3-15.
 83. Fleischer B, Sturm E, De Vries JE, Spits H. Triggering of cytotoxic T lymphocytes and NK cells via the Tp103 pathway is dependent on the expression of the T cell receptor/CD3 complex. *J Immunol* 1988;141:1103-7.
 84. Jacobs R, Stoll M, Stratmann G, Leo R, Link H, Schmidt RE. CD16- CD56+ natural killer cells after bone marrow transplantation. *Blood* 1992;79:3239-44.
 85. Bühling F, Kunz D, Reinhold D, Ulmer AJ, Ernst M, Flad HD, Ansorge S. Expression and functional role of dipeptidyl peptidase IV (CD26) on human natural killer cells. *Nat Immun* 1994;13:270-9.
 86. Abbott CA, Baker E, Sutherland GR, McCaughan GW. Genomic organization, exact localization, and tissue expression of the human CD26 (dipeptidyl peptidase IV) gene. *Immunogenetics* 1994;40:331-8.
 87. Böhm SK, Gum JR, Jr., Erickson RH, Hicks JW, Kim YS. Human dipeptidyl peptidase IV gene promoter: tissue-specific regulation from a TATA-less GC-rich sequence characteristic of a housekeeping gene promoter. *Biochem J* 1995;311(Pt 3):835-43.
 88. Misumi Y, Hayashi Y, Arakawa F, Ikehara Y. Molecular cloning and sequence analysis of human dipeptidyl peptidase IV, a serine proteinase on the cell surface. *Biochim Biophys Acta* 1992;1131:333-6.
 89. Engel M, Hoffmann T, Wagner L, Wermann M, Heiser U, Kiefersauer R, Huber R, Bode W, Demuth H-U, Brandstetter H. The crystal structure of dipeptidyl peptidase IV (CD26) reveals its functional regulation and enzymatic mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:5063-8.
 90. Rasmussen HB, Branner S, Wiberg FC, Wagtmann N. Crystal structure of human dipeptidyl peptidase IV/CD26 in complex with a substrate analog. *Nat Struct Biol* 2003;10:19-25.
 91. Bjelke JR, Christensen J, Branner S, Wagtmann N, Olsen C, Kanstrup AB, Rasmussen HB. Tyrosine 547 constitutes an essential part of the catalytic mechanism of dipeptidyl peptidase IV. *J Biol Chem* 2004;279:34691-7.
 92. Van Damme J, Struyf S, Wuyts A, Van Coillie E, Menten P, Schols D, Sozzani S, De Meester I, Proost P. The role of CD26/DPP IV in chemokine processing. *Chem Immunol* 1999;72:42-56.
 93. Hoffmann T, Faust J, Neubert K, Ansorge S. Dipeptidyl peptidase IV (CD 26) and aminopeptidase N (CD 13) catalyzed hydrolysis of cytokines and peptides with N-terminal cytokine sequences. *FEBS Lett* 1993;336:61-4.
 94. Vanhoof G, Goossens F, De Meester I, Hendriks D, Scharpé S. Proline motifs in peptides and their biological processing. *Faseb J* 1995;9:736-44.
 95. Wang XM, Yu DM, McCaughan GW, Gorrell MD. Extra-enzymatic roles of DPIV and FAP in cell adhesion and migration on collagen and fibronectin. *Adv Exp Med Biol* 2006;575:213-22.
 96. Martinez-Navio JM, Climent N, Pacheco R, Garcia F, Plana M, Nomdedeu M, Oliva H, Rovira C, Miralles L, Gatell JM, Gallart T, Mallol J, Lluís C, Franco R. Immunological dysfunction in HIV-1-infected individuals caused by impairment of adenosine deaminase-induced costimulation of T-cell activation. *Immunology* 2009;128:393-404.

97. Pang R, Law WL, Chu AC, Poon JT, Lam CS, Chow AK, Ng L, Cheung LW, Lan XR, Lan HY, Tan VP, Yau TC, Poon RT, Wong BC. A subpopulation of CD26+ cancer stem cells with metastatic capacity in human colorectal cancer. *Cell Stem Cell* 2010;6:603-15.
98. Ansorge S, Bank U, Heimburg A, Helmuth M, Koch G, Tadge J, Lendeckel U, Wolke C, Neubert K, Faust J, Fuchs P, Reinhold D, Thielitz A, Täger M. Recent insights into the role of dipeptidyl aminopeptidase IV (DPIV) and aminopeptidase N (APN) families in immune functions. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:253-61.
99. Reinhold D, Gohl A, Wrenger S, Reinhold A, Kühlmann UC, Faust J, Neubert K, Thielitz A, Brocke S, Täger M, Ansorge S, Bank U. Review: Role of dipeptidyl peptidase IV (DP IV)-like enzymes in T lymphocyte activation: investigations in DP IV/CD26-knockout mice. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:268-74.
100. De Meester I, Scharpé S, Lambeir AM. Dipeptidyl peptidases and related proteins: multifaceted markers and therapeutic targets. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:245-7.
101. Schön E, Eichmann E, Grunow R, Jahn S, Kiessig ST, Volk HD, Ansorge S. Dipeptidyl peptidase IV in human T lymphocytes. An approach to the role of a membrane peptidase in the immune system. *Biomed Biochim Acta* 1986;45:1523-8.
102. Reinhold D, Kähne T, Steinbrecher A, Wrenger S, Neubert K, Ansorge S, Brocke S. The role of dipeptidyl peptidase IV (DP IV) enzymatic activity in T cell activation and autoimmunity. *Biol Chem* 2002;383:1133-8.
103. Franco R, Valenzuela A, Lluís C, Blanco J. Enzymatic and extraenzymatic role of ecto-adenosine deaminase in lymphocytes. *Immunol Rev* 1998;161:27-42.
104. Pacheco R, Martínez-Navio JM, Lejeune M, Climent N, Oliva H, Gatell JM, Gallart T, Mallol J, Lluís C, Franco R. CD26, adenosine deaminase, and adenosine receptors mediate costimulatory signals in the immunological synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:9583-8.
105. Thompson MA, Ohnuma K, Abe M, Morimoto C, Dang NH. CD26/dipeptidyl peptidase IV as a novel therapeutic target for cancer and immune disorders. *Mini Rev Med Chem* 2007;7:253-73.
106. Aytac U, Dang NH. CD26/dipeptidyl peptidase IV: a regulator of immune function and a potential molecular target for therapy. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2004;4:11-8.
107. Yazbeck R, Howarth GS, Abbott CA. Dipeptidyl peptidase inhibitors, an emerging drug class for inflammatory disease? *Trends Pharmacol Sci* 2009;30:600-7.
108. Lambeir AM, Durinx C, Scharpé S, De Meester I. Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: an update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003;40:209-94.
109. Blonde L. Current antihyperglycemic treatment strategies for patients with type 2 diabetes mellitus. *Cleve Clin J Med* 2009;76(Suppl 5):S4-11.
110. Campbell RK, Neumiller JJ, White J, Sisson E, Kuhn C. Type 2 diabetes: epidemiology and treatment, pathophysiology, new therapeutics, and the evolving role of the pharmacist. *J Am Pharm Assoc* 2009;49(Suppl 1):S2.
111. Palalau AI, Tahrani AA, Piya MK, Barnett AH. DPP-4 inhibitors in clinical practice. *Postgrad Med* 2009;121:70-100.
112. Ahrén B. GLP-1-based therapy of type 2 diabetes: GLP-1 mimetics and DPP-IV inhibitors. *Curr Diab Rep* 2007;7:340-7.
113. Lupi R, Del Guerra S, D'Aleo V, Boggi U, Filipponi F, Marchetti P. The direct effects of GLP-1 and GIP, alone or in combination, on human pancreatic islets. *Regul Pept* 2010;165:129-32.
114. Hildebrandt M, Reutter W, Arck P, Rose M, Klapp BF. A guardian angel: the involvement of dipeptidyl peptidase IV in psychoneuroendocrine function, nutrition and immune defence. *Clin Sci* 2000;99:93-104.
115. Bank U, Bohr UR, Reinhold D, Lendeckel U, Ansorge S, Malfetheriner P, Tager M. Inflammatory bowel diseases: multiple benefits from therapy with dipeptidyl- and alanyl-aminopeptidase inhibitors. *Front Biosci* 2008;13:3699-713.
116. Matsumoto S, Okabe Y, Setoyama H, Takayama K, Ohtsuka J, Funahashi H, Imaoka A, Okada Y, Umesaki Y. Inflammatory bowel disease-like enteritis and caecitis in a senescence accelerated mouse P1/Yit strain. *Gut* 1998;43:71-8.
117. Hartmann B, Thulesen J, Kissow H, Thulesen S, Orskov C, Ropke C, Poulsen SS, Holst JJ. Dipeptidyl peptidase IV inhibition enhances the intestinotrophic effect of glucagon-like peptide-2 in rats and mice. *Endocrinology* 2000;141:4013-20.
118. Drucker DJ. Minireview: the glucagon-like peptides. *Endocrinology* 2001;142:521-7.
119. Estall JL, Drucker DJ. Glucagon and glucagon-like peptide receptors as drug targets. *Curr Pharmaceut Design* 2006;12:1731-50.
120. Drucker DJ, Yusta B, Boushey RP, DeForest L, Brubaker PL. Human [Gly2]GLP-2 reduces the severity of colonic injury in a murine model of experimental colitis. *Am J Physiol* 1999;276:G79-91.
121. Tsai CH, Hill M, Asa SL, Brubaker PL, Drucker DJ. Intestinal growth-promoting properties of glucagon-like peptide-2 in mice. *Am J Physiol* 1997;273:E77-84.
122. Drucker DJ, Shi Q, Crivici A, Sumner-Smith M, Tavares W, Hill M, DeForest L, Cooper S, Brubaker PL. Regulation of the biological activity of glucagon-like peptide 2 in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Nature Biotechnol* 1997;15:673-7.
123. Yan S, Marguet D, Dobers J, Reutter W, Fan H. Deficiency of CD26 results in a change of cytokine and immunoglobulin secretion after stimulation by pokeweed mitogen. *Eur J Immunol* 2003;33:1519-27.
124. Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell* 1993;75:253-61.
125. Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993;75:263-74.

126. Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;109:1344-67.
127. Scheffele F, Fuss IJ. Induction of TNBS colitis in mice. *Curr Prot Immunol* 2002;Chapter 15:Unit 15.19.
128. Uhlig HH, Powrie F. Mouse models of intestinal inflammation as tools to understand the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Eur J Immunol* 2009;39:2021-6.
129. Grisham MB, Volkmer C, Tso P, Yamada T. Metabolism of trinitrobenzene sulfonic acid by the rat colon produces reactive oxygen species. *Gastroenterology* 1991;101:540-7.
130. Ardite E, Sans M, Panés J, Romero FJ, Piqué JM, Fernández-Checa JC. Replenishment of glutathione levels improves mucosal function in experimental acute colitis. *Lab Invest* 2000;80:735-44.
131. Wirtz S, Neurath MF. Mouse models of inflammatory bowel disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2007;59:1073-83.
132. Hans W, Schölmerich J, Gross V, Falk W. The role of the resident intestinal flora in acute and chronic dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:267-73.
133. Axelsson LG, Landström E, Bylund-Fellenius AC. Experimental colitis induced by dextran sulphate sodium in mice: beneficial effects of sulphasalazine and olsalazine. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12:925-34.
134. Murthy SN, Cooper HS, Shim H, Shah RS, Ibrahim SA, Sedergran DJ. Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin. *Dig Dis Sci* 1993;38:1722-34.
135. Murthy S, Cooper HS, Yoshitake H, Meyer C, Meyer CJ, Murthy NS. Combination therapy of pentoxifylline and TNF α monoclonal antibody in dextran sulphate-induced mouse colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:251-60.
136. Ohkusa T. [Production of experimental ulcerative colitis in hamsters by dextran sulfate sodium and changes in intestinal microflora, in Japanese]. *Nippon Shokakibyō Gakkai Zasshi* 1985;82:1327-36.
137. Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 1990;98:694-702.
138. Yamada M, Ohkusa T, Okayasu I. Occurrence of dysplasia and adenocarcinoma after experimental chronic ulcerative colitis in hamsters induced by dextran sulphate sodium. *Gut* 1992;33:1521-27.
139. Egger B, Bajaj-Elliott M, MacDonald TT, Inglin R, Eysselein VE, Buchler MW. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cytokine profile and dose dependency. *Digestion* 2000;62:240-8.
140. Bailey RW, Bourne EJ. Intracellular glycosidases of dextran-producing bacteria. *Nature* 1961;191:277-8.
141. Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Histological analysis of murine colitis induced by dextran sulfate sodium of different molecular weights. *Exp Anim* 2000;49:9-15.
142. Venkatraman A, Ramakrishna BS, Pulimood AB, Patra S, Murthy S. Increased permeability in dextran sulphate colitis in rats: time course of development and effect of butyrate. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:1053-9.
143. Poritz LS, Garver KI, Green C, Fitzpatrick L, Ruggiero F, Koltun WA. Loss of the tight junction protein ZO-1 in dextran sulfate sodium induced colitis. *J Surg Res* 2007;140:12-9.
144. Ni J, Chen SF, Hollander D. Effects of dextran sulphate sodium on intestinal epithelial cells and intestinal lymphocytes. *Gut* 1996;39:234-41.
145. Chen Y, Chou K, Fuchs E, Havran WL, Boismenu R. Protection of the intestinal mucosa by intraepithelial gamma delta T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:14338-43.
146. Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993;69:238-49.
147. Lambeir AM, Durinx C, Proost P, Van Damme J, Scharpe S, De Meester I. Kinetic study of the processing by dipeptidyl-peptidase IV/CD26 of neuropeptides involved in pancreatic insulin secretion. *FEBS Lett* 2001;507:327-30.
148. Mentlein R, Dahms P, Grandt D, Krüger R. Proteolytic processing of neuropeptide Y and peptide YY by dipeptidyl peptidase IV. *Regul Pept* 1993;49:133-44.
149. Bouras M, Huneau JF, Luengo C, Erlanson-Albertsson C, Tomé D. Metabolism of enterostatin in rat intestine, brain membranes, and serum: differential involvement of proline-specific peptidases. *Peptides* 1995;16:399-405.
150. Nausch I, Mentlein R, Heymann E. The degradation of bioactive peptides and proteins by dipeptidyl peptidase IV from human placenta. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1990;371:1113-8.
151. Durinx C, Lambeir AM, Bosmans E, Falmagne JB, Berghmans R, Haemers A, Scharpé S, De Meester I. Molecular characterization of dipeptidyl peptidase activity in serum: soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV is responsible for the release of X-Pro dipeptides. *Eur J Biochem* 2000;267:5608-13.
152. Kato T, Nagatsu T, Fukasawa K, Harada M, Nagatsu I, Sakakibara S. Successive cleavage of N-terminal Arg1-Pro2 and Lys3-Pro4 from substance P but no release of Arg1-Pro2 from bradykinin, by X-Pro dipeptidyl-aminopeptidase. *Biochim Biophys Acta* 1978;525:417-22.
153. Heymann E, Mentlein R. Liver dipeptidyl aminopeptidase IV hydrolyzes substance P. *FEBS Lett* 1978;91:360-4.
154. Shane R, Wilk S, Bodnar RJ. Modulation of endomorphin-2-induced analgesia by dipeptidyl peptidase IV. *Brain Res* 1999;815:278-86.
155. Oravec T, Pall M, Roderiquez G, Gorrell MD, Ditto M, Nguyen NY, Boykins R, Unsworth E, Norcross MA. Regulation of the receptor specificity and function of the chemokine RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) by dipeptidyl peptidase IV (CD26)-mediated cleavage. *J Exp Med* 1997;186:1865-72.
156. Proost P, De Meester I, Schols D, Struyf S, Lambeir AM, Wuyts A, Opdenakker G, De Clercq E, Scharpé S, Van Damme J. Amino-terminal truncation of chemokines by CD26/dipeptidyl-peptidase IV. Conversion of RANTES into a potent inhibitor of monocyte chemotaxis and HIV-1-infection. *J Biol Chem* 1998;273:7222-7.

157. Shioda T, Kato H, Ohnishi Y, Tashiro K, Ikegawa M, Nakayama EE, Hu H, Kato A, Sakai Y, Liu H, Honjo T, Nomoto A, Iwamoto A, Morimoto C, Nagai Y. Anti-HIV-1 and chemotactic activities of human stromal cell-derived factor 1alpha (SDF-1alpha) and SDF-1beta are abolished by CD26/dipeptidyl peptidase IV-mediated cleavage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:6331-6.
158. Proost P, Struyf S, Schols D, Opendakker G, Sozzani S, Allavena P, Mantovani A, Augustyns K, Bal G, Haemers A, Lambeir AM, Scharpé S, Van Damme J, De Meester I. Truncation of macrophage-derived chemokine by CD26/dipeptidyl-peptidase IV beyond its predicted cleavage site affects chemotactic activity and CC chemokine receptor 4 interaction. *J Biol Chem* 1999;274:3988-93.
159. Struyf S, Proost P, Schols D, De Clercq E, Opendakker G, Lenaerts JP, Detheux M, Parmentier M, De Meester I, Scharpé S, Van Damme J. CD26/dipeptidyl-peptidase IV down-regulates the eosinophil chemotactic potency, but not the anti-HIV activity of human eotaxin by affecting its interaction with CC chemokine receptor 3. *J Immunol* 1999;162:4903-9.
160. Mentlein R, Gallwitz B, Schmidt WE. Dipeptidyl-peptidase IV hydrolyses gastric inhibitory polypeptide, glucagon-like peptide-1(7-36)amide, peptide histidine methionine and is responsible for their degradation in human serum. *Eur J Biochem* 1993;214:829-35.
161. Bongers J, Lambros T, Ahmad M, Heimer EP. Kinetics of dipeptidyl peptidase IV proteolysis of growth hormone-releasing factor and analogs. *Biochim Biophys Acta* 1992;1122:147-53.

Summary

DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASES (DPP IV/CD26)

Inflammatory bowel diseases (Crohn's disease, ulcerative colitis, undetermined colitis) are a group of chronic autoimmune inflammatory diseases distinguished by recurrent inflammation of various parts of the gastrointestinal (GI) system and presenting a significant public health problem. Despite large basic and clinical research, the aetiology of these diseases and the pathogenesis of inflammation itself remain elusive. Previous studies have confirmed a causal relationship between mediators of inflammatory response and molecules involved in the regulation of their biological activity, especially proteases. The aim of this review is to summarise earlier findings on different aspects of inflammatory bowel diseases, paying particular attention to the involvement of dipeptidyl peptidase IV (CD26 molecule, DPP IV/CD26) in the etiopathogenesis of inflammatory processes in the GI tract. Animal studies of colitis have significantly contributed to the understanding and treatment of these diseases, investigations of ulcerative colitis (DSS-colitis) and Crohn's disease (TNBS-colitis) on the murine model in particular.

KEY WORDS: *animal models of colitis, CD26 molecule, Crohn's disease, DSS-colitis, TNBS-colitis, ulcerative colitis*

CORRESPONDING AUTHOR:

Prof. dr. sc. Jadranka Varljen
Zavod za kemiju i biokemiju
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
Braće Branchetta 20, HR-51000 Rijeka, Croatia
E-mail: vjadran@medri.hr